Vol. I MARS 1922 Fasc. 1

LA SCIENCE DU SOL

ANNALES DES LABORATOIRES G. TRUFFAUT

AGRONOMIE. — BACTERIOLOGIE
CHIMIE ET PHYSIOLOGIE VEGÉTALE. — ENTOMOLOGIE
PROTISTOLOGIE. — PHYTOPATHOLOGIE
ZOOLOGIE.



SOMMAIRE

LIBRAIRIE DES ÉTABLISSEMENTS GEORGES TRUFFAUT .
90 bis, AVENUE DE PARIS, VERSAILLES

Prix de ce fascicule : 5 fr. 25 net

LABORATOIRES AGRONOMIQUES

GEORGES TRUFFAUT

90 bis, Avenue de Paris. VERSAILLES. — Téléphone : 226-1071

Directeur : M. GEORGES TRUFFAUT

Ingénieur agricole M. C. — Laüréat de l'Académie d'Agriculture.

Recherches biologiques, chimiques et bactériologiques :
M. N. Bezssonoff, Docteur en Philosophie (Petrograd).

Recherches Parasitologiques dans le Sol :
M. le Docteur Ch. Joyeux, Docteur ès sciences.

Mycologie et Botanique :
M. Réaubourg, Docteur en pharmacie de l'Université de Paris.

Horticulture technique :
M. Ch. Grosdemange, Professeur d'Horticulture.

Travaux de Chimie, Chimie physique, Microphotographie :
M. L. Gouthière, Ingénieur-chimiste I. C. N.

Travaux de Chimie et Bactériologie agricole :
M. E. Faraill, Ingénieur-chimiste I. C. N.

Chimie analytique :
M. S. Wajnberg, Ingénieur-chimiste I. C. N.

Cultures Bactériennes et Protistologie : Mlle Madeleine Perey.

Génétique : M. Jean François.

Jardinier-chef des Champs d'expériences : M. J. Souques.

Jardinier-chef des Serres d'expériences : M. R. Allavoine.

Conseil d'Administration des Laboratoires Georges TRUFFAUT

Comte de Montlaur, Président de la Société d'électro-chimie et électro-métallurgie.

MM. E. Clémentel, ancien Ministre de l'Agriculture et du Commerce.

D. Agache, Président de la Société des Établissements Kuhlmann.

G. Chanlaire, Banquier.

Émile Kapp, Industriel.

Henri Laboureur, Ingénieur-Électricien.

Émile Lambert, Administrateur délégué de la Société commerciale Lambert-Rivière.

Albert Truffaut père, Vice-Président honoraire de la Société Nationale d'Horticulture.

Vol. I MARS 1922 Fasc. 1

LA SCIENCE DU SOL

ANNALES DES LABORATOIRES G. TRUFFAUT

AGRONOMIE. — BACTERIOLOGIE
CHIMIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALE. — ENTOMOLOGIE
PROTISTOLOGIE. — PHYTOPATHOLOGIE
ZOOLOGIE.



SOMMAIRE

LIBRAIRIE DES ETABLISSEMENTS GEORGES TRUFFAUT
90 bis, Avenue de Paris, Versailles

Prix de ce fascicule : **5 fr. 25** net

LA STÉRILISATION PARTIELLE

OU

DÉSINFECTION DU SOL

SES EFFETS ET LEURS CAUSES

par **Georges TRUFFAUT,** Ingénieur agricole
et **N. BEZSSONOFF,** Docteur en Philosophie

Les nombreuses données contenues dans la Littérature agronomique sur la stérilisation partielle du sol se trouvent en partie résumées dans les travaux de Miège (1920) et de Malpeaux (1920). Il nous paraît inutile de faire ici un historique de la question. Nous nous bornerons aux seules citations qui nous paraissent indispensables pour faire comprendre le but que nous avons poursuivi dans nos propres recherches.

Depuis 1909, les travaux classiques de Russell (1 et 2) et Hutchinson, suivis d'autres études, attirèrent l'attention sur l'augmentation de la fertilité d'une terre partiellement stérilisée, soit par l'application d'un stérilisant chimique, soit par l'effet de la chaleur, et sur les particularités de la flore bactérienne de terres ainsi traitées.

Pour expliquer les causes des augmentations de rendements, Russell et son école mirent en évidence l'augmentation du nombre de bactéries dans un sol partiellement stérilisé et la diminution de celui des protozoaires.

Le nombre de bactéries que l'on peut compter dans une terre est ordinairement considéré comme caractérisant sa fertilité. Autrement dit, ce ne serait pas l'action physiologique de telle ou telle race de bactéries qui importe, mais bien la grandeur du nombre total des bactéries.

Il semble que c'est dans cet ordre d'idées que les chercheurs de Rothamsted se sont surtout préoccupés de faire constater l'abondance de la flore bactérienne dans les terres partiellement

stérilisées, sans donner beaucoup d'importance au caractère spécial et à la composition de cette flore. Ils s'attachèrent surtout aux problèmes des protozoaires du sol (D. W. Cutler, 1919-1920, 1, 2, 3).

Déjà en 1903, Hiltner et Stormer avaient signalé l'augmentation des nombres bactériens des sols partiellement stérilisés.

D'après la théorie anglaise, cet accroissement du nombre des bactéries dans les terres partiellement stérilisées est dû à la diminution de celui des protozoaires qui se nourrissent aux dépens des bactéries.

Les protozoaires, ennemis des bactéries (Waksman, 1916), supportent moins bien les actions stérilisantes que ces dernières. Les bactéries ne trouvant plus d'obstacles pour entraver leur développement après la disparition presque totale des protozoaires, concourent à rendre plus fertile le sol partiellement stérilisé, par le fait même de leur présence en très grand nombre.

En 1917 Kopeloff et Coleman, tout en constatant l'influence profonde exercée par la théorie de Russell et de Hutchinson sur les recherches du même domaine, déclarent qu'elle n'est plus acceptée par la majorité des auteurs.

Néanmoins, à l'heure actuelle, la théorie anglaise (1) jouit encore d'une autorité nettement supérieure à celle des autres tentatives d'explications et opinions émises sur le même sujet. Ainsi (novembre 1920), Bruno, faisant un résumé sur l'Évolution de l'Agriculture, conclut en la faveur de la thèse de Russell.

Les données des laborieuses recherches sur la protistologie du sol faites dans le but de contrôler la thèse de Russell et de Hutchinson, et qui se trouvent presque toutes relatées dans le travail de Kopeloff, cité ci-dessus, confirment que la diminution du nombre des protozoaires et l'augmentation de celui des bactéries constatées par Russell et Hutchinson sont la conséquence de la stérilisation partielle.

Grâce à la méthode ingénieuse de Cutler (1920, 2), collaborateur de Russell, on arrive à prouver l'existence réelle d'une nombreuse faune active de protozoaires dans le sol.

Mais, tout en rendant justice aux travaux de Cutler ainsi que de ses prédécesseurs Martin et Lewin (1915), il est dif-

(1) Nous laissons de côté l'hypothèse de l'intoxication qui admet difficilement le contrôle expérimental.

ficile de ne pas se joindre aux doutes émis par les auteurs américains Kopeloff et Coleman qui ne croient pas l'amoindrissement du nombre des protozoaires suffisant pour expliquer à lui seul les très heureux effets de la stérilisation partielle.

Ainsi, Fellers et Allison (1920) ont pu établir que les sols fertiles se distinguent par la variété de formes et la grande abondance de leur faune de protozoaires en comparaison avec celle des terres peu fertiles. « Il paraît, disent-ils, que le nombre des protozoaires ne semble pas constituer un élément défavorable au rendement du sol. »

En plus des observations concernant exclusivement la microbiologie des terres partiellement stérilisées, signalons quelques travaux, rares il est vrai, mais qui tendent à mettre en évidence une propriété chimique bien définie semblant être générale aux terres partiellement stérilisées.

Une étude de 1913 de Russell (3) et de Petherbridge, établit qu'une terre traitée par un agent chimique (Toluène, Formol) ou par une température de 100° ou 55° contient par rapport à l'échantillon témoin non traité un excès d'Azote ammoniacal et d'Azote amidé, particulièrement grand dans le cas des terres chauffées à 100°.

Parmi les nombreuses recherches sur l'action de la chaleur sur le sol il est intéressant de mentionner également un travail de Johnson (1919) qui confirme les données de Russell et de Petherbridge en ce qui concerne la richesse en Azote ammoniacal, comme étant la caractéristique des terres chauffées.

D'après Johnson, le chauffage de la terre à 250° détermine la formation maximum d'Ammoniaque ; la quantité diminue suivant que la température s'abaisse ou dépasse 250°.

Ainsi, d'après l'auteur, l'effet toxique d'un chauffage à 250° serait dû à une concentration trop forte en Carbonate d'ammoniaque formé par l'action de la chaleur, alors que les concentrations moindres obtenues à des températures plus basses, favorisaient la croissance des végétaux. A l'appui de quoi l'auteur cite une expérience dans laquelle des doses d'ammoniaque furent ajoutées aux terres non chauffées jusqu'à être semblables à celles trouvées dans les terres chauffées.

Les effets sur la végétation dans les séries de terre (chauffées ou non chauffées) furent strictement parallèles.

La très grande majorité de l'Azote contenue dans les sols étant de l'Azote organique (1) : Protéine, Peptone, Amino-Acides, Bases, etc..., sa transformation en Azote ammoniacal, sous l'action de la chaleur, concorde avec les données obtenues dans les recherches de laboratoire.

Ainsi Blanchetière (1920) trouve que l'action d'un chauffage, pendant 2 heures, à 120° du Glycocolle et de la Tyrosine transforme jusqu'à 16 % de leur Azote en Azote ammoniacal.

En ce qui concerne la richesse en Ammoniaque des terres après la stérilisation chimique, nous ne disposons que des données précitées de Russell et de Petherbridge. Celles contenues dans le travail de Matthews (1920) ne permettent de tirer aucune conclusion nette à ce sujet.

L'ammonification de la terre constatée par Russell et Petherbridge après l'application de Toluène et de Formol serait difficile à expliquer autrement que par l'influence exercée par ces corps sur la population microbienne. On sait quelles difficultés on rencontre au cours du dosage de l'Ammoniaque dans le sol. Il semble plus facile de déterminer avec certitude la présence d'une flore bactérienne ammonifiante dans un sol ayant subi une stérilisation chimique, que de mesurer le faible excédent en ammoniaque produit dans le sol par ces organismes.

La richesse en ammoniaque des terres partiellement stérilisées doit être mise en rapport avec leur fertilité, car on sait, depuis les travaux de Mazé (1901), Hutchinson H. B. et Miller (1912) et de Prianichnikoff (1916), combien une nutrition azotée est favorable aux plantes quand l'Azote leur est fourni sous forme ammoniacale ou amidée.

Une autre explication qui lie l'effet favorable de la stérilisation partielle à son influence sur la flore bactérienne du sol, a attiré notre attention. Liebscher (1913) exposa la théorie que l'effet de la stérilisation partielle est comparable à celui d'une fumure azotée. Russell et Hutchinson (1909) citent l'opinion de Hiltner et de Stormer, d'après laquelle l'emploi d'antiseptiques détermine une flore bactérienne capable d'intensifier la fixation d'Azote atmosphérique.

---

(1) Ainsi Lathrop (1917) a pu constater que 97 à 98 % de l'Azote total d'un sol se trouve sous forme d'Azote amidé entrant dans des combinaisons organiques. Ce fait est une confirmation récente des théories de Berthelot à ce sujet.

Russell et Hutchinson signalent également que la couleur vert foncé des plantes se développant dans un sol stérilisé correspond à une augmentation de la nutrition azotée (comme suite du traitement). Toutes les expériences de M. Georges Truffaut depuis 1917 confirment cette hypothèse et nous pensons qu'un des effets principaux de la stérilisation partielle du sol, soit par la chaleur, soit par les antiseptiques, est de l'enrichir en Azote organique facilement assimilable. Cet Azote combiné provient des corps des bactéries fixatrices d'Azote atmosphérique qui peuvent être, quand le milieu est convenable, dans des conditions excellentes de multiplication intense.

Dans nos recherches actuelles, nous nous sommes surtout attachés à déterminer les organismes formant la *majorité* de la population *bactérienne* des terres partiellement stérilisées.

Ayant pu constater que la flore de ces terres se distingue par l'abondance des colonies symbiotiques de Clostridium Pastorianum, organisme fixateur d'Azote atmosphérique, nous fûmes amenés à envisager les effets de la stérilisation partielle comme étant en rapport avec une intensification de la fixation de l'Azote atmosphérique par le sol.

Depuis les recherches classiques de Berthelot (1899), il est généralement admis que l'Azote contenu dans la terre provient de l'Azote atmosphérique, ce dernier étant fixé par les microorganismes du sol.

C'est aussi Berthelot qui fut le premier à démontrer que la végétation des plantes supérieures favorise l'activité bactérienne. Il posait ainsi les bases d'une conception souvent exposée depuis dans les livres d'études modernes du Cycle de l'Azote atmosphérique passant des microbes du sol aux plantes et rendu par ces dernières, en partie au sol, en partie à l'atmosphère.

Le fait d'abord constaté par Berthelot, que la majorité de l'Azote contenu dans les terres arables se trouve sous la forme d'Azote protéique, est en parfait accord avec cette conception.

Il semble raisonnable de penser que pour des applications agricoles pratiques ce n'est pas par une inoculation directe du sol qu'on peut assurer un développement intense et constant des bactéries fixatrices d'Azote ; mais en créant par des traitements appropriés de la terre des conditions qui faciliteront le

développement de ces dernières et détermineront par cela même une fixation intense d'Azote.

Pour nous, le problème se posait de vérifier si dans le cas de la stérilisation partielle une telle fixation d'Azote pourrait être particulièrement intensifiée au point d'assurer une nutrition azotée des végétaux comparable à celle fournie par des engrais azotés employés dans une culture extensive.

Enfin, en ce qui concerne l'étude du milieu de culture, il nous a semblé intéressant de voir le rapport qui pourrait exister entre le degré d'acidité et d'alcalinité absolues d'une terre mesurée par la méthode électrométrique, indicateur Ph. de Sörensen (1912), et les effets de la stérilisation partielle sur cette terre.

La concentration des ions H ou OH, d'un milieu étant une des conditions essentielles pour sa caractéristique physico-chimique, il était raisonnable de s'attendre à ce que le développement et la composition de la flore bactérienne fussent influencés par ses variations.

D'ailleurs, depuis 1916 cette méthode est entrée dans la pratique des Laboratoires agronomiques américains (Sharp et Hoagland 1916 et 1919 ; Schmidt et Hoagland 1919).

Nos expériences se divisent en 2 parties :

1° Effet de la stérilisation partielle sur les récoltes et sur l'économie de l'azote.

2° Étude de la microflore spéciale aux terres partiellement stérilisées.

PREMIÈRE PARTIE

EFFET DE LA STÉRILISATION PARTIELLE SUR LES RÉCOLTES

Les applications pratiques de stérilisation partielle (désinfection du sol) ayant pour but d'augmenter les récoltes, se font à l'heure actuelle de deux manières différentes :

1° Traitement du sol par la chaleur;

2° Emploi de substances chimiquement actives.

Le premier mode de stérilisation est employé en Angleterre, sous trois formes de traitements différents (Russell E. J. 4. 1920).

L'emploi du chauffage détermine certainement une action favorable sur l'augmentation des récoltes.

En plus de nombreuses données obtenues dans ce sens en Angleterre (Russell 4) et celles mentionnées dans le « Sixth Annual Report of the Cheshunt Experimental Station », M. Georges Truffaut a pu s'en convaincre au cours des observations dont quelques résultats sont communiqués dans la partie expérimentale qui suit.

Néanmoins, dans un jugement sur les applications agricoles des deux modes de stérilisation partielle du sol, le Dr E. J. Russell (1920) conclut en faveur de la stérilisation par voie chimique, comme étant la plus intéressante au point de vue économique.

Que l'avenir dans les applications agricoles appartienne seulement à la stérilisation par voie chimique, a été depuis 1917 l'opinion du principal auteur de ce travail. Depuis cette date, l'étude de l'influence sur les récoltes du traitement du sol par différents agents chimiques a été poursuivie ici.

Ces expériences furent précédées d'un essai de vérification de l'influence favorable de la chaleur employée comme stérilisant partiel. Cet essai fut organisé de la façon suivante :

Expérience sur Tomates et Maïs (28 Mai au 27 Septembre)

	TOMATES Rendement		MAÏS Rendement
	Récolte des fruits seuls	Récolte totale	Récolte totale
Témoin	100	100	100
Chaleur (1 heure à 120° à l'autoclave)	175,8	168,6	166,5

Ainsi l'effet de la chaleur sur les rendements des récoltes fut nettement établi.

Il s'agissait de rechercher les moyens chimiques de stérilisation partielle permettant d'obtenir des résultats comparables, voire même supérieurs à ceux qui viennent d'être cités, et cela par des procédés susceptibles d'être appliqués dans la pratique agricole.

Les stérilisants employés se divisent en trois groupes :

1° CARBURES AROMATIQUES

Naphtaline (pure et brute), Toluène, Benzène, Phénanthrène, Acénaphtène, Cymène, Cumène, Chloro-Orthocrésol, Chloro-Métacrésol.

2° CARBURES DES SÉRIES GRASSES.

Huiles lourdes (distillées et non distillées).

3° SOUFRE ET SES COMBINAISONS ORGANIQUES ET MINÉRALES

Sulfure de carbone, Sulfure de calcium.

Les données expérimentales obtenues au cours de la première série d'essais avec ces différents corps, montrèrent nettement que, seul, un représentant du troisième groupe, le Sulfure de calcium, réunissait les deux conditions nécessaires pour le stérilisant agricole.

En effet, seul, le Sulfure de calcium montrait une efficacité intéressante sur l'augmentation des récoltes, employé à des doses qui permettent la concurrence économique avec les engrais azotés ordinairement employés en agriculture.

Aussi, dans la seconde série de nos expériences, nos efforts ont porté de préférence sur l'étude du Sulfure de calcium entrant comme base d'un mélange réunissant les conditions exigées pour un engrais complet.

PREMIÈRE SÉRIE DES EXPÉRIENCES DE STÉRILISATION PARTIELLE DU SOL PAR VOIE CHIMIQUE

Expérience n° 1

Cette expérience devait donner une orientation sur l'efficacité en tant que stérilisant partiel de :

1° CARBURES AROMATIQUES.

2° HUILE LOURDE.

3° SULFURE DE CARBONE.

L'expérience dura du 5 septembre au 23 décembre, et fut faite sur des Maïs.

Pour chacune des séries, 50 graines de Maïs furent semées dans 7 pots.

Stérilisants employés et doses par mètre carré	Dose par kg. de terre (gr.)	Nombre de plantes développées	Pesée de la récolte	Rendement par rapport au Témoin
Témoin	—	16	98 gr.	100
Anthracène 20 gr......	0,56	27	260 gr.	265
Phénanthrène 20 gr. ..	0,56	16	95 gr.	97
Acénaphtène 20 gr....	0,56	28	250 gr.	255
Toluène 64 ccs.........	1,81	25	200 gr.	204
Cymène 64 ccs.........	1,81	41	333 gr.	340
Huile lourde lavée 20 gr.	0,56	19	162 gr.	165
Émulsion de Sulfure de carbone 50 gr.	1,41	26	144 gr.	147

Les meilleurs résultats furent obtenus avec les Carbures aromatiques. Sauf le Phénanthrène qui se montra toxique à la dose employée, ils permirent tous le développement d'un plus grand nombre de plantes (résultat d'une action insecticide et anti-cryptogamique).

Expérience nº 2

Le Cymène ayant donné les meilleurs résultats dans l'expérience Nº 1, fut l'objet d'une étude spéciale sur du Blé, dont les résultats sont montrés par le graphique suivant :

Cette expérience avait pour but de se rendre compte de l'influence de l'effet du Cymène sur des semis ou plantations immédiates.

Il s'agissait d'établir quel laps de temps devait s'écouler entre le traitement chimique du sol et un semis d'une plante quelconque, des doses, et des méthodes d'application les plus favorables.

Le graphique ci-après donne à cet égard des indications précises pour des semis effectués immédiatement, 24 heures après le traitement, 48 heures, 7 jours, 14 jours après le traitement.

D'une manière générale, on peut conclure qu'en employant du Cymène non émulsionné, le minimum de temps nécessaire entre le traitement et les semis est de 10 jours et qu'un intervalle de 14 jours convient pour la pratique.

GRAPHIQUE N° 1

STERILISATION PARTIELLE DU SOL AVEC DU CYMÈNE ÉMULSIONNÉ

(Février 1919) Expérience sur Blé

Augmentation de rendement

Rendement du Témoin

Semis du Blé

Immédiat

1 jour 2 jours 7 jours 14 jours

après le traitement

Témoin

Cymène 50 gr. au m²

" 75 " "

" 100 " "

200 190 180 170 160 150 140 130 120 110 100 90 80 70 60 50 40 30 20 10. 0

STERILISATION PARTIELLE DU SOL AVEC DU CYMÈNE NON ÉMULSIONNÉ

(Février 1919) Expérience sur Blé

Augmentation de rendement

Rendement du Témoin

Semis du Blé

Immédiat

1 jour 2 jours 7 jours 14 jours

apres le traitement

Témoin

Cymène 50 gr. au m²

" 75 " "

" 100 " "

200 190 180 170 160 150 140 130 120 110 100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 0

Dreyer

Il était intéressant de constater :

Que le Cymène émulsionné, employé à la dose de 100 grammes par mètre carré, donne le maximum de résultats en ce qui concerne les augmentations de récoltes (179 %).

Vient ensuite le Cymène à 75 grammes par mètre carré, et le Cymène à 50 grammes au mètre carré.

Dans le cas de l'emploi d'une émulsion, il est parfaitement possible de semer 7 jours après l'application du mélange stérilisant dans le sol. Il serait dangereux de le faire avec du Cymène non émulsionné.

NOTE. — Le Cymène et le Sulfure de carbone s'émulsionnent facilement avec des Sulfo-ricinates, ou des Ricinates de soude.

Il se forme des émulsions excessivement stables et très faciles à employer.

Cette expérience N° 2 a montré nettement que le Cymène, carbure aromatique (Isopropylbenzène), avait donné des résultats plus avantageux que la stérilisation par la vapeur, confirmant ainsi les résultats obtenus avec le Sulfure de carbone et le Toluène, résultats obtenus par M. G. Truffaut en 1917 aux Pépinières Nationales de Versailles, et résumés ci-dessous :

PARCELLE TÉMOIN : 100 mq. ont produit en 90 jours 13.684 plantes pesant 52 kg 600.

PARCELLE TRAITÉE : 100 mq. ont produit en 90 jours 27.894 plantes pesant 142 kg. 600.

(Ayant reçu 500 kg. à l'hectare de CS^2 émulsionné).

Augmentation de la récolte en poids : 270 %.

Ces résultats furent vérifiés par des applications sur 2 hectares.

Expérience n° 3

Cette expérience avait pour but de comparer :

1° L'effet sur les récoltes des carbures aromatiques employés comme stérilisant unique.

2° L'action du Sulfure de calcium préparé par deux procédés différents et employés à des doses variables, l'action du Sulfure employé seul.

3° Enfin l'effet du Sulfure de calcium mélangé avec trois carbures différents.

L'expérience comprenait 22 essais différents et chaque essai comportant 8 pots.

Les carbures : Benzine, Toluène, Cumène, furent ajoutés de la façon suivante : on creusa dans chaque pot 4 trous de 8 à 10 cm. de profondeur; dans chacun d'eux on versa 0cc. 5 de carbure liquide et on recouvrit aussitôt de terre.

Dans les autres essais on saupoudra la terre des pots avec le stérilisant donné, puis on rajouta une couche de terre d'un centimètre d'épaisseur.

RECHERCHES SUR LA STÉRILISATION PARTIELLE
(M. G. Truffaut)

	Dose au mètre carré	CHOUX	GODÉTIAS	TOMATES
Témoin		100	100	100
Benzine 2 cc. par pot	64 gr.	128	104	94,8
Toluène — —	64 —	131	120	92
Cumène — —	64 —	124	96	90,2
Naphtaline brute	20 —	151	104	101,5
Naphtaline pure	20 —	158	126	101,5
Naphtaline brute	40 —	144	103	99
Anthracène brut	20 —	132	96	74,7
Anthracène pur	20 —	157	—	—
Anthracène brut	40 —	133	97	88,5
Huile lourde	20 —	143	101	99,3
Huile lourde	40 —	129	67	—
Sulfure de calcium (Blende)	80 —	152	125	78,5
Sulfure de calcium (Blende)	40 —	162,5	116	92,6
Sulfure de calcium (Blende)	20 —	145	101	99,1
Sulfure de calcium (réduction de plâtre)	80 —	161	117	112
Sulfure de calcium (réduction de plâtre)	40 —	147	126	128,2
Sulfure de calcium (réduction de plâtre	20 —	162,5	101	117,2
CaS blende 20 gr. par mètre carré. Huile lourde 10 gr. Naphtaline brute 10 gr. Total	40 —	123	105	83,7
CaS Blende 20 gr. Naphtaline brute 20 gr. Total	40 —	139	125	86,5
CaS réduction plâtre 20 gr. Naphtaline brute 20 gr. Total	40 —	139	119	87
CaS Blende 20 gr. Huile lourde 20 gr. Total	40 —	109	131	101,4
CaS réduction plâtre 20 gr. Huile lourde 20 gr. Total	40 —	123	117	103
CaS Blende 10 gr. Anthracène brut 20 gr. Total	30 —	158	103	87,5
CaS réduction plâtre 10 gr. Anthracène brut 20 gr. Total	30 —	147	107	128,4

CONCLUSIONS DE L'EXPÉRIENCE N° 3

Comme on peut le voir, les 20 stérilisants employés donnèrent des résultats positifs avec les choux.

Le principe de la désinfection chimique du sol paraît être particulièrement favorable à l'augmentation de rendement de cette crucifère.

Par contre, les tomates semblent avoir mal supporté la stérilisation partielle, sauf l'anthracène employé à la dose de 20 grammes par mètre carré et du Sulfure de calcium obtenu par réduction du plâtre et qui, employé à la même dose, donne la même augmentation de récolte : 128 % (28 % augmentation).

Dans les autres cas l'augmentation est insignifiante et même dans la majorité de ces cas l'application des stérilisants a donné des résultats néfastes pour les plantes.

Le cas des tomates présente une anomalie évidente par rapport à la stérilisation partielle. Elle est devenue très explicable à la suite des longues recherches faites à ce sujet à la station expérimentale de Cheshunt (Angleterre 1920). Les tomates fructifient moins facilement quand on leur offre une nourriture azotée exagérée. Dans ce cas elles produisent des branches et un feuillage très important, mais peu de fruits. (Voir photographies, planche 6.) C'est l'explication du fait assez anormal constaté dans nos expériences. Il vaudrait mieux tenir compte seulement des résultats obtenus sur les Choux (Voir photographie, planches 8 et 9) et les Godetias.

Expérience n° 4

STÉRILISATION PARTIELLE, SUR RUTABAGAS, EN CULTURE DÉROBÉE D'AUTOMNE.

Semis du 21 septembre. Récolte du 9 mai, à la floraison sur des carrés de 2 mètres, avec du Sulfure de calcium.

Cette expérience avait pour but :

1° De rechercher la dose de CaS la plus avantageuse. Elle fut trouvée être de 30 grammes par mètre carré.

2° De prouver l'effet d'un double stérilisant, l'action de la Naphtaline s'ajoutant à celle du Sulfure de calcium.

Les résultats obtenus par ce mélange en ont montré la grande supériorité sur les Sulfures seuls.

Matières employées et doses au mètre carré (en grammes)	Pesée des récoltes en grammes	RENDEMENT	Augmentation de rendement
CaS 6,9 gr.	1 700 gr.	100	
CaS 13,75	750 —	44	
CaS 27,5	6.000 —	353	253 %
CaS 30 (gros)	5.900 —	347	247 %
CaS 30 (fin)	9.000 —	529	429 %
CaS 41,25.	8.200 —	482	382 %
CaS 55	3.800 —	223	123 %
CaS 22 + Naphtaline 20 gr.	10.400 —	611	511 %

Note. — Dans toutes nos expériences, le Sulfure de calcium est indiqué pour 100 % CaS. Méthode de dosage (*Voir remarque sur la technique, page 56*).

Expérience n° 5 sur plants de Choux de Hollande

Mélange de Sulfure de calcium, Huile lourde, Naphtaline, à la dose de 150 grammes au mètre carré.

Sur des parcelles de 25 mètres carrés. Le mélange fut semé entre les rangs des plants de choux le 11 mai.

TÉMOINS		TRAITÉS	
Nombre de choux	Poids des choux	Nombre de choux	Poids des choux
1.000	14 k. 500	1.400	33 k. 000
1.025	14 k. 500	1.200	32 k. 000
850	15 k. 000	1.700	39 k. 500
950	16 k. 000	1 600	40 k. 500
3.825	60 k. 000	5.900	145 k. 000
Rendement. . 100	100	154 %	141 %

Cette expérience est en quelque sorte une variante de la précédente par l'emploi de trois stérilisants à la fois. Elle est intéressante comme indication de la possibilité de l'utilisation d'Huile lourde dans les mélanges stérilisants à base de Sulfure de calcium.

Expérience n° 6 sur Avoine, Blé, Betterave (29 mars)

L'influence de l'association de 2 carbures aromatiques différents sur l'effet des mélanges stérilisants à base de CaS fut l'objet de cette expérience qui porta sur des rectangles de 3 m²90.

Sulgine (1) { 15 % CaS ; 15 % Naphtaline

Sulgine Cymène { 15 % CaS ; 7,5 % Naphtaline ; 7,5 % Cymène

On repique le blé 10 jours après le traitement, et les betteraves et l'avoine 8 jours après.

Traitement et dose au mètre carré (100 grammes)	Blé (2)		Betterave		Avoine	
	Poids de la récolte	Rendement	Poids de la récolte	Rendement	Poids de la récolte	Rendement
Témoin	2 k. 870	100	35 k. 600	100	5 k. 500	100
CaS + Naphtaline.	3 k. 020	105,2	41 k. 300	116	5 k. 800	105,4
CaS + Naphtaline. Cymène	3 k. 550	123,7	44 k. 700	125,5	6 k.	109
	Les meilleurs résultats sont obtenus avec le mélange Sulgine Cymène pour le blé et les betteraves.					

Conclusions. — La série d'expériences qui vient d'être exposée établit clairement que parmi les corps stérilisants susceptibles d'entrer dans la pratique agronomique, la première place appartient au Sulfure de calcium.

Les expériences Nos 3 et 4 montrent que les doses les plus efficaces de CaS se trouvent être entre 30 et 40 grammes par mètre carré.

Il s'agissait de se rendre compte s'il est possible d'atteindre les mêmes résultats avec des doses réduites de CaS en renforçant l'action stérilisante par l'adjonction d'un carbure aromatique tel que la Naphtaline.

Dans le tableau ci-contre, on peut voir que les rendements obtenus après un traitement par des mélanges de CaS + Naphtaline, le Sulfure de calcium étant employé en moyenne à la dose de 20 grammes par mètre carré, sont légèrement supérieurs à ceux dus à l'action du Sulfure de calcium seul employé à des doses de 38 grammes par m² en moyenne.

(1) Nous appellerons désormais Sulgine le mélange stérilisant inventé et breveté, par M. G. Truffaut, dont la base est du CaS, et dont les autres éléments sont destinés à amplifier l'effet de la stérilisation partielle sur les récoltes.

(2) Voir photographies planche 9.

Les expériences de la deuxième série dont l'exposé va suivre eurent pour but de rechercher si la Naphtaline pourrait être remplacée par l'adjonction d'un mélange de sels minéraux qui pourraient non seulement stimuler l'action principale de la stérilisation partielle : la fixation de l'Azote atmosphérique, mais aussi assurer aux plantes l'apport d'autres éléments indis pensables à leur nutrition, tels le Phosphore, la Chaux, la Magné sie.

A la fin de la première série d'expériences, nous croyons utile d'ajouter un tableau résumant les moyennes des résultats obtenus, en l'absence du CaS, par l'action de différents carbures aromatiques pris isolément.

TABLEAU RÉSUMANT LES EXPÉRIENCES DE LA 1ère SÉRIE (Nos 1 à 6)
CaS + CARBURES AROMATIQUES

Matières employées comme stérilisants et doses moyennes au mètre carré	Moyenne des rendements	Plantes employées	Nombre d'expériences
CaS (38 gr.)	210% (1)	Choux, Godetias, Tomates (en pots) Rutabagas (pleine terre)	4
CaS (20 gr.) + Naphtaline (15 gr.)	214% (2)	Choux, Godetias, Tomates (en pots). Blé, Betterave, Avoine, Rutabagas (pleine terre)	7
CaS (20 gr.) + Naphtaline (15 gr.) + Huile lourde (10 gr.)	141 %	Choux, Godetias, Tomates (en pots) Choux (pleine terre).....	4
CaS (15 gr.) + Naphtaline (15 gr.) + Cymène (15 gr.)	119,4%	Blé, Betterave, Avoine (pleine terre).........	3
CaS. (20 gr.) + Huile lourde (20 gr.)	114 %	Choux, Godetias, Tomates (en pots).............	3
CaS (20 gr.) + Anthracène (20 gr)	121,8%	Choux, Godetias, Tomates (en pots).............	3

(1) Dans le cas des Rutabagas, nous avons obtenu un rendement de 429 % avec 30 grammes de CaS par mètre carré.

(2) Dans le cas des Rutabagas, nous avons obtenu un rendement de 611 % avec 22 grammes CaS + Naphtaline 20 grammes par mètre carré.

CARBURES AROMATIQUES

Stérilisants employés	Moyenne des rendements	Plantes employées	Nombre d'expériences
Cymène...........	241 %	Maïs (en pots)............	
		Blé (en pots).............	2
Anthracène	185 %	Choux, Godetias, Tomates.	
		Choux (en pots)...........	4
Phénanthrène	97 %	Maïs (en pots)............	1
Acénaphtène......	255 %	Maïs (en pots)............	1
Toluène...........	159 %	Choux, Godetias, Tomates..	
		Maïs (en pots)............	4
Sulfure de carbone.	147 %	Maïs (en pots)............	1
Huile lourde......	135,7 %	Choux, Godetias, Tomates.	
		Maïs (en pots)............	4
Benzine...........	108,9 %	Choux, Godetias, Tomates (en pots)...............	3
Cumène...........	103,4 %	Choux, Godetias, Tomates (en pots)...............	3
Naphtaline........	124 %	Choux, Godetias, Tomates (en pots)...............	3

DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Expériences, en serre, sur des Pavots et des Coréopsis

(1er avril)

L'expérience avait pour but :

1° Une étude comparée de l'effet sur les récoltes (récoltes vertes et graines) des trois mélanges stérilisants employés dans la première expérience;

2° Une étude de l'effet de l'addition de Carbonate de magnésie et de Carbonate de chaux aux mélanges stérilisants;

3° De se rendre compte de l'influence :

a) Du repiquage immédiat des plantes dans le sol venant de subir la stérilisation partielle;

b) Du repiquage huit jours après la stérilisation partielle.

L'expérience fut disposée de la façon suivante :

Chacun des 7 essais qui composaient l'expérience fut effectué sur 5 pots de 17 c/m contenant 2 kilogs de la même terre que celle qui avait servi à la première expérience sans végétation. (Nous

rappelons que le titre moyen en Azote de cette terre dépassait 6 grammes par kilog, donc terre anormalement riche en Azote.)

Tous les essais furent répartis en 2 séries.

La première série, contenant un pot par essai, fut utilisée pour un repiquage immédiat.

La deuxième série, contenant 4 pots, fut utilisée pour un repiquage huit jours après le traitement par les mélanges stérilisants.

Les mélanges suivants furent employés :

Témoin.

N° 1 Sulgine à 6 gr. 66 par kilog de terre (Composition, voir p. 22).

N° 2 Chloro Ortho-Cresol, 6 gr. 66 par kilog de terre (Voir p. 23).

N° 3 Chloro Meta-Cresol, 6 gr. 66 par kilog de terre (Voir p. 23).

N° 4 Sulgine + Carbonate de magnésie (les 2 produits mélangés à doses égales), 6 gr. 66 par kilog de terre.

N° 5 Chloro Ortho-Cresol + Carbonate de magnésie (mélangé à doses égales), 6 gr. 66 par kilog de terre.

N° 6 Sulgine + Carbonate de chaux (mélangé à doses égales), 6 gr. 66 par kilog de terre.

N° 7 Chloro-Ortho-Cresol + Carbonate de chaux (mélangé à doses égales), 6 gr. 66 par kilog de terre.

RÉCOLTE VERTE PESÉE AU MOMENT DE LA FLORAISON (PAVOTS)

Mélanges employés	Rendement	
	Repiquage immédiat	Repiquage 8 jours après
Témoin	100	100
N° 1 Sulgine	107,4	433,3
— 2 Chloro-Ortho-Crésol	0	207,4
— 3 Chloro-Méta-Crésol	0	288,8
— 4 Sulgine + Carbonate de magnésie	103,7	281,1
— 5 Chloro-Ortho-Crésol + Carbonate de magnésie	0	216,5
— 6 Sulgine + Carbonate de chaux	200	285
— 7 Chloro-Ortho-Crésol + Carbonate de chaux	140,7	346

Ces chiffres montrent qu'il est dangereux de procéder à un semis ou à un repiquage immédiat après une opération de stérilisation partielle; cependant l'addition de Carbonate de chaux à un stérilisant partiel comme la SULGINE diminue la nocivité lors d'un repiquage immédiat. Après 8 jours en ce qui concerne les pavots, l'augmentation de rendement la plus considérable se constate pour le N° 1, augmentation de rendement de 333 %.

Le meilleur résultat est donné ensuite par le mélange de Chloro-Ortho-Crésol et Carbonate de chaux. Viennent ensuite avec un peu de différence le Chloro-Méta-Crésol et la Sulgine + Carbonate de chaux.

CULTURES DES CORÉOPSIS

POIDS DES GRAINES DE CORÉOPSIS RÉCOLTÉES

Repiquage des plantes 8 jours après le traitement

Mélanges employés	Poids des graines	Rendement
Témoin	80 gr.	100
Sulgine	110 —	137
Chloro-Ortho-Crésol	155 —	193
Chloro-Méta-Crésol	137 —	171
Sulgine + Carbonate de magnésie	120 —	150
Chloro-Ortho-Crésol + Carbonate de magnésie.	135 —	179
Sulgine + Carbonate de chaux	180 —	225
Chloro-Ortho-Crésol + Carbonate de chaux.	137 —	171

Les graines de Coréopsis qui avaient été soigneusement récoltées, dans chacune des séries chaque jour, furent pesées le 11 novembre.

Le maximum de résultats se constate pour la Sulgine additionnée de Carbonate de chaux, augmentation de rendement 125 %.

Tous les stérilisants partiels employés donnent lieu à une augmentation de rendement dont la plus minime est de 37 %.

INTENSIFICATION DE LA FIXATION D'AZOTE ATMOSPHÉRIQUE DANS LES TERRES PARTIELLEMENT STÉRILISÉES.

Expérience n° 7

Le Clostridium Pastorianum, organisme anaérobie et sporogène, est un fixateur énergique de l'Azote atmosphérique. Cet organisme prédomine dans les terres partiellement stérilisées.

Cependant, dans les terres traitées et témoins de l'exp. N° 7 ne portant pas de plantes, les dosages d'Azote montrèrent qu'il y avait un déficit d'Azote par rapport à la terre témoin, 80 jours après le début de l'expérience.

Les terres témoin contenaient 6 gr. 19 d'Azote par kilog, les terres ayant subi la stérilisation partielle 5 gr. 51 (Azote total sur terre sèche). Quoiqu'il y ait peu de différence dans la teneur en Azote, les terres ayant subi la stérilisation partielle étaient un peu appauvries.

Le cas des terres ayant porté des plantes est différent. Dans ce cas, les chiffres d'Azote dans les terres traitées et témoin portant des plantes sont sensiblement égaux.

	Azote par kg. de terre fine et sèche
Témoin	2,98
Terres traitées (Sulgine)	2,85

En plus, on doit tenir compte de la grande différence entre les récoltes du témoin et celles des terres traitées. Ces récoltes furent pesées à l'état frais au moment de la floraison. Les trois récoltes des pots traitées présentent un excédent par rapport aux récoltes du témoin de :

	Expériences sur Pavots annuels
Sulgine	333 %
Chloro-Ortho-Crésol	107,4 %
Chloro-Meta-Crésol	188,8 %

Il est évident que l'excédent de la récolte des terres traitées par rapport aux terres témoin correspond à un excédent d'Azote contenu dans les tissus des pavots, ce qui équivaut à un gain sensible en Azote total dans les terres traitées portant les plantes.

Expérience n° 8, en pots, faite en plein air sur Moutarde (12 juillet au 31 août)

Cette expérience eut pour objet :

1° D'établir l'effet exercé sur l'action du mélange stérilisant par l'adjonction de faibles quantités d'éléments tels que le Manganèse et le Zinc (Catalyseurs).

En ce qui concerne les cultures pures d'Azotobacter, de Clostridium Pastorianum, de Bacillus-radicicola, le rôle essentiel du Manganèse comme stimulant de la fixation de l'Azote atmos-

phérique a été récemment confirmé par un travail de M. D. Olaru, 1920.

Il résultait de nos observations que la stérilisation de la terre par un mélange à base de CaS favorisait le développement du Clostridium Pastorianum. L'heureux effet sur les récoltes de la stérilisation partielle nous semble être lié à l'action exercée par cet organisme. L'effet stimulant du Manganèse sur la fixation de l'Azote par le Clostridium Pastorianum pourrait se produire en pleine terre de même qu'en milieu de culture. Il semble intéressant de comparer l'augmentation de la récolte produite par l'application de ce même mélange stérilisant avec et sans Manganèse.

2° Il s'agissait de comparer l'augmentation de rendement obtenue par l'application d'un stérilisant à celui d'un engrais azoté ordinairement employé tel que le Sulfate d'ammoniaque ou le Nitrate de soude, la quantité du stérilisant (CaS pur employé par unité de surface) étant deux fois moindre en poids que celle du Nitrate de soude et du Sulfate d'ammoniaque.

L'apport des autres éléments nutritifs, phosphore et potasse, était naturellement le même en quantité et sous la même forme.

La terre choisie pour l'expérience était une terre relativement pauvre en Azote, elle n'en contenait que 1 gr. 12 par kilo de terre fine et sèche.

Le pourcentage d'humidité de la terre déterminé par dessiccation à 100° était de 16 % ; celui de la terre fine de 94 %. Tous les calculs sont rapportés à la terre fine et sèche.

Les mélanges employés sont les suivants :

	1° Témoin	aucun traitement.
	2° Sulgine 6	24 gr. CaS à 62,5 % de CaS pur 10 gr. Co_3 Mg 6 gr. So_4 K_2 30 gr. Craie phosphatée à 17 % de P_2O_5 30 gr. Plâtre.
STÉRILISANTS	3° Sulgine 7	24 gr. CaS à 62.5 de CaS pur. 10 gr. Co_3 Mg. 6 gr. So_4 K2. 30 gr. Craie. 29 gr. 3 Plâtre. 2 gr. Urée. 0 gr. 25. So_4 Zn. 0 gr. 25. So_4 Mn.

ENGRAIS

4° NITRATE DE SOUDE
- 32 gr. 2 Nitrate de soude.
- 10 gr. Co_3 Mg.
- 6 gr. So_4 K_2.
- 30 gr.8 Terre fine et sèche.
- 30. gr. Craie phosphatée à 17 % P_2O_5

5° SULFATE D'AMMONIAQUE
- 23 gr.8 Sulfate d'ammoniaque.
- 10 gr. Co_3 Mg.
- 6 gr. So_4 K_2.
- 30 gr.2 Terre fine et sèche.
- 30 gr. Craie phosphatée à 17 %.

Une série de 6 pots de 29 c/m de diamètre fut traitée par chacun de ces mélanges à raison de 6 gr. 66 par pot, ce qui correspond à une dose de 100 grammes par mètre carré de surface.

Six pots semblables mais non traités formèrent la série témoin.

Chaque pot contenait 13 kgs. 215 de terre correspondant à 10 kgs. 682 de terre fine et sèche.

Le 22 juillet, 10 jours après le traitement, tous les pots furent ensemencés avec des moutardes blanches.

Les dosages d'Azote furent effectués :

1° Dans la terre non traitée au début de l'expérience;

2° Dans les terres traitées et témoin à la fin de l'expérience;

3° Dans chaque récolte (témoin et traitée).

	Azote dans le sol par kg. de terre fine et sèche		Azote des récoltes (Poids total)	Gain total d'Azote par kg. de terre fine et sèche (récolte et sol)
	au début	à la fin		
Témoin	1,12	1,340	15 gr. 29	0,36
CaS	—	1,243	14 gr. 14	0,25
CaS + Manganèse	—	1,382	21 gr. 87	0,45
Nitrate de soude	—	1,556	24 gr. 90	0,63
Sulfate d'Ammoniaque	—	1,431	31 gr. 14	0,56

Le 31 août, 40 jours après, à la floraison des moutardes, on effectua les pesées qui donnèrent les résultats suivants par rapport au témoin :

	Poids de la récolte verte	Récolte (Poids sec)	Rendement	
			Récolte verte	Poids sec
Témoin	3 k. 335	0 k. 575	100	100
CaS	4 k. 540	0 k. 658	136	114,4
CaS + Manganèse	5 k. 360	0 k. 723	160,7	125,7
Nitrate de soude	5 k. 580	0 k. 711	167,3	123,6
Sulfate d'Ammoniaque	5 k. 580	0 k. 767	167,3	133

Dosages d'Azote des terres (traitées et témoin) à la fin de l'expérience :

	Azote en grammes par kg. de terre fine et sèche	
	au début	à la fin
1. — Témoin	1,12	1,340
2. — CaS	—	1,243
3. — CaS + Manganèse + Zn.	—	1,382
4. — Nitrate de soude	—	1,556
5. — Sulfate d'ammoniaque	—	1,431

Cette expérience établit que :

1° Quand on a additionné à la terre suffisamment de Chaux, de Potasse, de Magnésie et d'Acide phosphorique, la stérilisation partielle donne sensiblement les mêmes augmentations de récolte que l'emploi d'engrais tels que le Sulfate d'ammoniaque et le Nitrate de soude. L'augmentation de rendement avec les engrais complets est de 67,3 % et avec l'application du stérilisant partiel de 60,7 %.

2° L'addition de Magnésie, de Manganèse et de Zinc, en petites proportions aux mélanges stérilisants, augmente la qualité du bouillon de culture ainsi fourni aux micro-organismes du sol et assure une augmentation de rendement sur la stérilisation partielle ordinaire qui atteint 38 % dans le cas présent.

Quand on remplace dans les engrais composés un sel azoté, Nitrate de soude ou Sulfate d'ammoniaque, par le Sulfure de calcium, il suffit d'en employer 1 fois moins en poids pour obtenir une presque équivalence de récolte verte.

Expérience n° 9 sur Blé, Scaroles, Navets

Cette expérience de longue durée, qui commença le 9 avril, ne prit fin qu'en avril suivant. Elle avait pour but de se rendre compte de l'influence sur trois récoltes successives d'une seule opération de stérilisation partielle. Elle avait également pour but d'étudier le bilan de l'Azote dans cette terre.

L'expérience fut organisée de la manière suivante. La terre fut divisée en 6 parcelles mesurant chacune 3 m² 90, les deux

premières furent traitées à la Sulgine à la dose de 100 grammes par mètre carré.

Formule de la Sulgine ordinaire :

15 gr. CaS pur.
15 gr. Naphtaline brute essorée.
12 gr. 5 Phosphate de chaux.
57 gr. 5 Plâtre.

Les deux parcelles suivantes ne subirent aucun traitement et servirent de témoin, les deux dernières furent stérilisées avec le mélange appelé Sulgine-Cymène dont la formule est :

15 gr. CaS pur.
7 gr. 5 Naphtaline brute essorée.
7 gr. 5 Cymène.
12 gr. 5 Phosphate de chaux.
57 gr. 5 Plâtre.

Les traitements à la Sulgine ordinaire et à la Sulgine-Cymène eurent lieu le 9 avril pour le terrain réservé au blé. Le blé fut repiqué 10 jours après, le 19 avril, en lignes à 22 centimètres entre les lignes et à 20 centimètres sur les lignes.

Les tableaux ci-dessous donnent une indication précise du poids des récoltes rapportées à l'hectare et indique les quantités d'Azote exportées par les récoltes.

	Témoin	Sulfure de Calcium et Cymène
Blé. — Poids de la récolte fraîche à l'hectare	7 358 k. 9	9 102 k. 5
Azote contenu dans cette récolte	70 k. 6	87 k. 3
Scaroles. — Poids de la récolte fraîche à l'hectare	21 487 k. 1	45 692 k. 2
Azote contenu dans cette récolte	50 k.	106 k. 4
Navets. — Poids de la récolte fraîche à l'hectare	4 102 k. 5	4 397 k. 1
Azote contenu dans cette récolte	12 k. 3	13 k. 4
Poids total des 3 récoltes	32 948 k. 5	59 191 k. 8
Augmentation de rendement %	100	179 %
Azote dans les trois récoltes	133 k.	207 k. 3
Azote fixé sous l'influence de la stérilisation partielle		74 k. 3
Augmentation d'exportation	100	156

Composition chimique du sol	Témoin	Sulgine-Cymène
Terre fine	87,73 %	89,92 %
Humidité	15,65 %	15,65 %
Densité apparente	1,0059	1,0059
Densité absolue	2	2
Azote exprimé en grammes par kilo de terre telle quelle	1,4002	1,5867
Azote par hectare (sous 0 m. 015 de profondeur)	2 112 k. 4	2 383 k. 9
Azote extrait en plus par 3 récoltes		74 k. 3
Azote fixé sous l'influence de la stérilisation partielle (par hectare)		345 k.

Après pesée du blé, le 10 juillet 1919, furent semées en place, en lignes, des scaroles qui à leur tour furent récoltées le 18 septembre 1919 ; enfin le jour de cette récolte furent semés des navets qui furent à leur tour récoltés le 6 avril 1920.

Au cours de cette expérience furent faites les numérations bactériennes qui établissent qu'un an après la stérilisation partielle à la Sulgine le témoin contenait 13 millions 8 de bactéries par gramme alors que les sols traités à la Sulgine en contenaient encore 15 millions 5. C'est la première expérience qui établit que pendant une année environ, le sol n'a pas été appauvri en Azote par trois récoltes successives ayant produit à l'hectare dans les meilleures conditions 59 tonnes de matières végétales alors que les parcelles témoins n'en produisaient que 33 tonnes, soit une augmentation de 79 %.

INFLUENCE DE LA SULGINE SUR DES RÉCOLTES D'OIGNONS, CHOUX ET POMMES DE TERRE

Expérience n° 10 sur Oignons blancs

(25 avril au 19 juillet)

Expérience faite dans les jardins de l'avenue de Paris à Versailles en pleine terre sur une superficie de 8 mètres pour la parcelle traitée et 8 mètres pour la parcelle non traitée.

Cette expérience avait pour but de se rendre compte de l'efficacité d'une stérilisation partielle, c'est-à-dire de l'augmentation d'une nourriture azotée sur une liliacée toujours moins sensible aux engrais azotés et sulfatés qu'une crucifère.

Il y avait une planche traitée à la Sulgine à la dose de 100 gr. par mètre carré et une planche non traitée; la première donna une récolte de 48 kg. 395 et la deuxième une récolte de 42kg. 050. L'augmentation de rendement ressort à 15 %.

Il était extrêmement visible, avant l'arrachage, que la terre qui avait reçu la stérilisation partielle avait donné lieu à une mobilisation intense d'Azote, car les feuilles des oignons étaient infiniment plus vertes, et d'un vert bien foncé.

Expérience n° 11 sur Choux de Brunswick

(28 mai au 24 septembre)

Cette expérience a été établie pour étudier l'influence de la stérilisation partielle dans une tourbe acide, de Villers-Saint-Sépulcre (Oise) dont nous donnons ci-dessous quelques caractéristiques :

Azote	2 °/oo
Carbonate de chaux	6,91 °/oo
Potentiel hydrogène Ph	5,15

Trois rectangles de 2 m. 50 de longueur sur 1 m. 30 de large, bordés de planches, avaient été établis. Sur chaque surface on disposa 20 centimètres de tourbe. L'un de ces rectangles fut conservé comme témoin, un deuxième reçut la Sulgine ordinaire à la dose de 100 grammes par mètre carré et le troisième de la Sulgine modifiée par l'addition de Magnésie à l'état d'oxyde selon la formule ci-dessous :

Sulfure de calcium à 62,5 %	24 %
Poudre d'os	9 %
Carbonate de chaux	52 %
Oxyde de magnésie à 90 %	15 %

Les choux furent repiqués le 11 juin à 50 centimètres en tous sens; les récoltes, pesées le 24 septembre, donnèrent les résultats suivants :

	Récolte	Rendement	Nombre de pieds
Témoin	41,500	100	19
Sulgine normale	50	120.4	18
Sulgine modifiée par Magnésie (Oxyde)	44,500	107.2	18

Pesée de la partie alimentaire :

	Récolte	Rendement
Témoin	22,500	100
Sulgine normale	35,500	158
Sulgine modifiée par la Magnésie (Oxyde).	26	115

Cette expérience montra que, dans un terrain acide, la Sulgine non modifiée a donné le maximum de résultats. L'addition de Magnésie à l'état d'oxyde fut néfaste.

Ceci d'ailleurs est une constatation générale bien établie depuis longtemps qui montre que, dans les formules d'engrais, la Magnésie à l'état caustique doit être absolument proscrite et il est avantageux de faire cette addition sous forme de Carbonate. Conclusions : les Chaux magnésiennes sont très dangereuses à employer pour les chaulages.

De toutes façons, cette expérience montre une amélioration considérable de la partie alimentaire des choux sous l'influence d'une stérilisation partielle, même dans un sol acide.

D'ailleurs le potentiel hydrogène d'une tourbe ainsi traitée se relève par suite de la formation du Carbonate de chaux résultant de la dissociation du Sulfure.

Expériences nº 12 faites sur Choux hâtifs d'Étampes en pleine terre, à Versailles (20 février)

Azote par kgr. de terre sèche	1,66
Carbonate de chaux	24,81

Cette expérience avait pour but de se rendre compte de l'intervention heureuse de la stérilisation partielle au moment du réveil de la végétation, toutes nos expériences précédentes ayant montré que le maximum d'efficacité de la stérilisation partielle concorde avec le moment où la terre commence à se réchauffer, ce qui est une condition favorable au développement du Clostridium Pastorianum.

Cette expérience fut établie dans une partie de terrain située au pied d'un mur exposé au midi, donc dans une situation très favorable. Les choux étaient plantés à 60 centimètres d'écartement. 20 choux reçurent la Sulgine à la dose de 100 grammes par mètre superficiel, enterrée par un binage, le 20 février 1919 ;

20 choux furent réservés comme témoins, et afin d'éviter l'influence du terrain lui-même, les séries témoins et les séries traitées furent intercalées en damiers.

RÉSULTAT :

20 choux témoins pèsent .... 29 k. 260
20 choux ayant subi la stérilisation partielle à la Sulgine pèsent 46 k 550
Poids moyen d'un chou de la terre partiellement stérilisée...... 2 k. 330
Poids moyen d'un chou témoin .... 1 k. 460

Le rendement des choux témoins étant 100, le rendement des choux ayant reçu la stérilisation partielle est de 160, soit une augmentation de 60 %.

Expérience n° 13 sur Pommes de terre en pleine terre

Champ d'expériences du Chesnay dans une terre de limon des plateaux.
Potentiel hydrogène (Ph) 5,95 (terre faiblement acide).
Composition chimique :

Azote.. 2,72 ‰
Carbonate de chaux.............................. 2,80 ‰

Cette expérience avait pour but de se rendre compte de l'efficacité d'une stérilisation partielle du sol par la Sulgine en ce qui concerne la culture des pommes de terre.

La Sulgine fut employée le 15 mars, enterrée par griffage; les pommes de terre furent plantées le 23 mars, la Sulgine fut employée à la dose de 10 kilogs par are, la récolte fut faite le 23 octobre.

RÉSULTATS :

Variété Royale anglaise :

Parcelle témoin, superficie 1 342 mq., récolte 709 kg. Rendement. 100 %
Parcelle traitée à la Sulgine 1 342 mq., récolte 906 kg. Rendement. 141,8 %

Variété Fluke Géante :

Parcelle témoin 627 mq., récolte 1 092 kg. Rendement........ 100 %
Parcelle traitée 627 mq., récolte 1 310 kg. Rendement........ 120 %

Variété Saucisse :

Parcelle témoin 513 mq., récolte 928 kg. Rendement........ 100 %
Parcelle traitée 513 mq., récolte 1 172 kg. Rendement........ 126,2 %

Variété Industrie :

Parcelle témoin 513 mq., récolte 1 107 kg. Rendement........ 100 %
Parcelle traitée 513 mq., récolte 1 303 kg. Rendement........ 117,7 %

L'augmentation moyenne de la récolte des parcelles ayant subi la stérilisation partielle sur les parcelles témoins dépasse 25 %.

Ce fut la première expérience faite en plein champ dans des conditions agricoles, sur une superficie totale de 6.000 mètres.

RÉSUMÉ DES EXPÉRIENCES DE LA 2e SÉRIE (Nos 7 à 13)

Les résultats de cette deuxième série sont résumés par le tableau suivant.

On peut s'assurer du résultat particulièrement heureux de l'adjonction du Carbonate de chaux, résultat qui devrait être attribué à la modification de la réaction du sol dont l'acidité est neutralisée par l'apport du Carbonate de chaux, ce qui assure les conditions les meilleures pour le travail biochimique de la fixation de l'Azote.

Stérilisants employés	Moyenne des rendements	Plantes employées	Nombre d'expériences
SULGINE 1 (1)........	200 %	Blé, Navet, Oignon, Choux (pleine terre).. Choux, Pavots, Coréopsis (pots)............	6
SULGINE + CO_3 Mg ...	205 %	Pavots, Coréopsis (pots).	2
SULGINE + CO_3 Ca ...	255 %	Pavots, Coréopsis (pots).	2
SULGINE + Cymène ..	148 %	Blé, Scarole, Navet (pleine terre).........	2
SULGINE 2 (2)........	114,4 %	Moutardes (en pots) ...	1
SULGINE 3 (3) (avec manganèse) .	125,7 %	Moutardes (en pots)....	1
SULGINE 4 (4) (avec manganèse (MgO) .	125 %	Choux (pleine terre)....	1
CHLORO-ORTHO-CRÉSOL	218,5 %	Pavots, Coréopsis (pots).	2
CHLORO-MÉTA-CRÉSOL .	229 %	Pavots, Coréopsis (pots).	2

(1) SULGINE 1		(2) SULGINE 2		(3) SULGINE 3		(4) SULGINE 4	
Ca S	24 à 62,5%	CaS	24	CaS	24	CaS	24
Naphtaline	15	CO_3Mg	10	CO_3Mg	10	Poudre d'os	9
Poudre d'os	9	SO_4K_2	6	SO_4K_2	6	$CaCO_3$	52
Plâtre	52	Craie phos.	30	Craie	30	MgO	15
		Plâtre	30	Plâtre	29,3		
				Urée	2		
				SO_4Zn	0,25		
				SO_4Mn	0,25		

ÉTUDE MICROBIOLOGIQUE DU SOL AYANT SUBI LA STÉRILISATION PARTIELLE

Tout d'abord, nous avons essayé de nous rendre compte de l'influence exercée sur la population microbienne d'un sol par l'emploi à doses massives des stérilisants chimiques, tels que le mélange à base de Sulfure de calcium nommé Sulgine (1) et différents Chloro-crésols. La technique microbiologique que nous avons suivie au cours de cette première expérience était celle ordinairement employée en bactériologie agricole et qui fut en grande partie élaborée à la station expérimentale de Rothamsted.

Ainsi, en ce qui concerne la population bactérienne, son étude devait se borner au comptage des colonies développées sur les plaques de Pétri ensemencées par des dilutions au 1/250.000 de l'échantillon des terres tenues en observation.

Le nombre des Protozoaires fut déterminé en employant la méthode de D. W. Cutler en ensemençant des boîtes de Pétri et tubes contenant de l'agar par des séries de dilutions plus faibles des mêmes sols.

Seul l'emploi de ces procédés devait nous permettre d'obtenir des résultats pouvant être comparés avec ceux déjà signalés par Russell et Hutchinson et autres chercheurs ayant employé des méthodes analogues.

En effet, d'accord avec Wyant (1921), l'état actuel de la microbiologie du sol nous incitait à penser que le nombre de micro-organismes du sol donné par les différents chercheurs ne correspond pas tant à la réalité qu'au mode opératoire suivi dans chaque cas.

L'expérience fut disposée de la façon suivante :

Les terres employées avaient une richesse en Azote anormale dépassant 6 grammes par kilog. On employa 8 pots de 20 centimètres contenant chacun 3 kilogs de cette terre.

Ces pots furent placés dans une serre à une température moyenne de 15° et arrosés de façon à maintenir une humidité convenable et toujours avec de l'eau stérile.

---

(1) Sulgine élaborée par G. Truffaut (Voir brevets français N° 489 566, anglais N° 120 288, américain N° 1 347 798 et certificat addition au brevet français Nos 21 230 et 21 758.

Séries	Mélanges appropriés	Kilogs de terre
1	Sulgine (6 gr. 66 par kilog.)	3 k. 000
2	Sulgine (6 gr. 66 par kilog.)	0 k. 500
3	Chloro-Ortho-Crésol (6 gr. 66 par kilog.)	3 k. 000
4	Chloro-Ortho-Crésol (6 gr. 66 par kilog.)	3 k 000
5	Chloro-Méta-Crésol (6 gr. 66 par kilog.)	0 k. 500
6	Chloro-Méta-Crésol (6 gr. 66 par kilog.)	0 k. 500

Formule Sulgine

Sulfure de calcium	24% à 62,5%
Naphtaline	15
Poudre d'os	9
Plâtre	52

Chloro-Ortho-Crésol

Chloro-Ortho-Crésol	30
Poudre d'os	9
Plâtre	9
Sable fin	52

Chloro-Méta-Crésol

Méta-Ortho-Crésol	30
Poudre d'Os	9
Plâtre	9
Sable fin	52

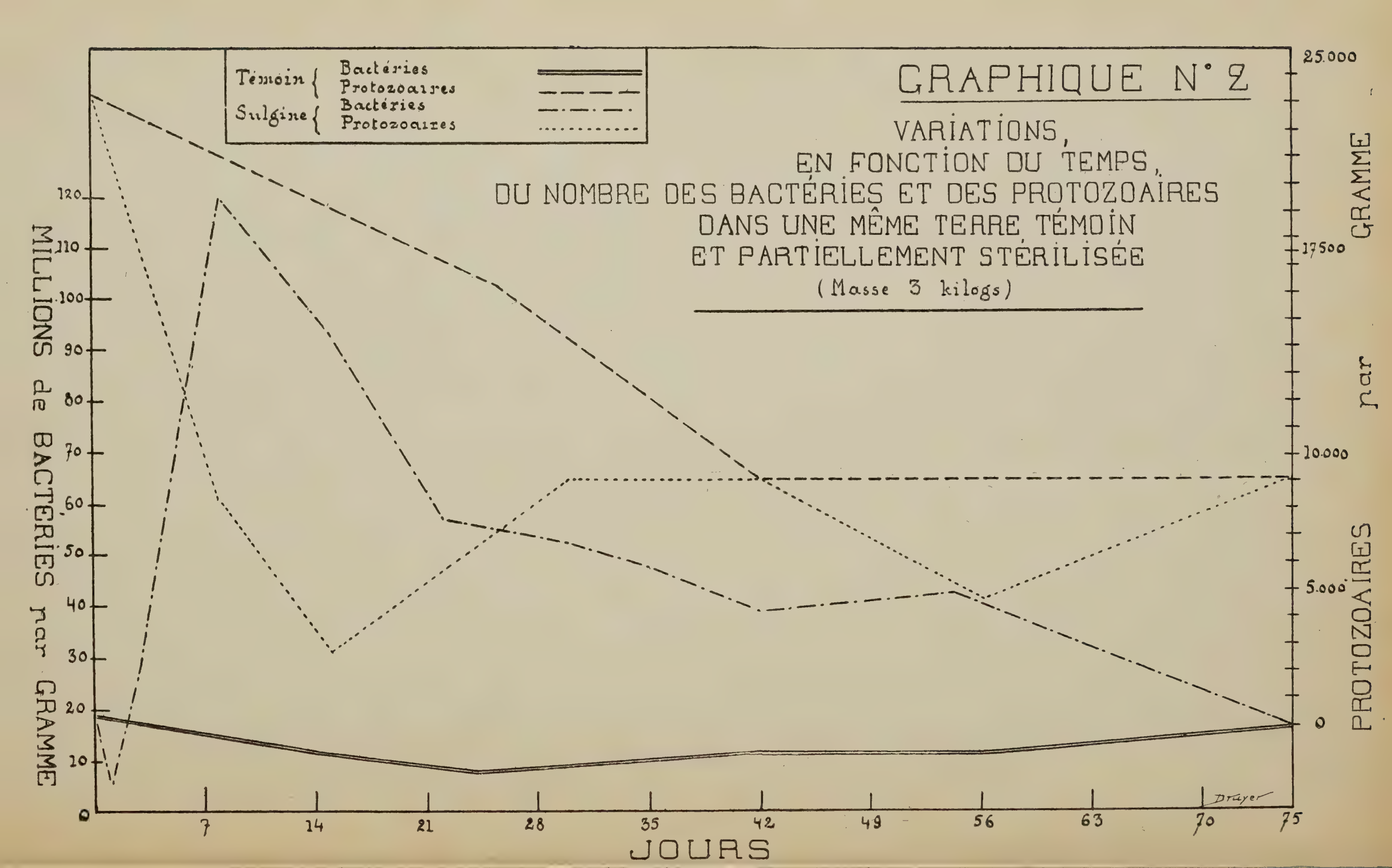
OBSERVATIONS MICROBIOLOGIQUES [1].

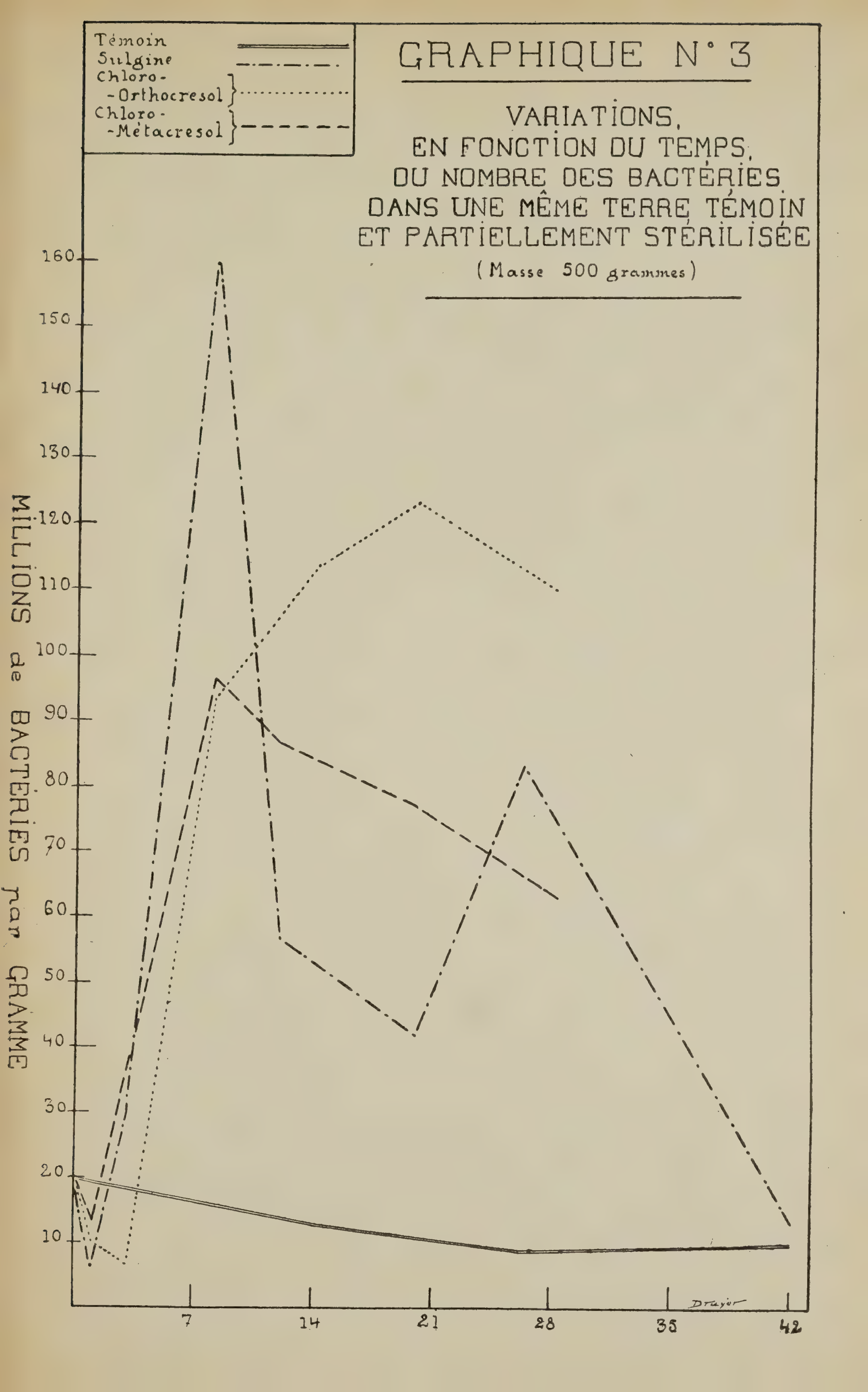
Les échantillons pour l'analyse bactériologique furent prélevés 12 heures, puis 3, 15, 22, 30, 35, 42, 54 jours jusqu'à 75 jours après le traitement.

Le graphique N° 1 montre la marche du développement des bactéries et des protozoaires dans les terres traitées et témoins des pots ne portant pas de plantes. Il est à remarquer la différence notable qui existe dans le caractère des courbes établies pour les pots contenant 3 kilos de terre et celles concernant les pots de 500 grammes (graphique n° 3). Dans le cas de ces derniers, l'application du Ca S est d'abord suivie par une augmentation du nombre bactérien qui dépasse celui obtenu dans les pots contenant 3 kilogs de terre.

Mais, tandis que vers le 42e jour le nombre des bactéries dans les pots de 500 grammes de terre traitée devient égal à

(1) Toutes les manipulations bactériologiques ont été effectuées avec la collaboration de Mlle M. Perey.


GRAPHIQUE N° 2
VARIATIONS,
EN FONCTION DU TEMPS,
DU NOMBRE DES BACTÉRIES ET DES PROTOZOAIRES
DANS UNE MÊME TERRE TÉMOIN
ET PARTIELLEMENT STÉRILISÉE
(Masse 3 kilogs)
Témoin { Bactéries
Protozoaires
Sulgine { Bactéries
Protozoaires
MILLIONS de BACTÉRIES par GRAMME
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120
PROTOZOAIRES par GRAMME
0
5.000
10.000
17500
25.000
JOURS
7
14
21
28
35
42
49
56
63
70
75
Drayer


Témoin
Sulgine
Chloro-
-Orthocresol
Chloro-
-Métacresol
GRAPHIQUE N° 3
VARIATIONS,
EN FONCTION DU TEMPS,
DU NOMBRE DES BACTÉRIES
DANS UNE MÊME TERRE TÉMOIN
ET PARTIELLEMENT STÉRILISÉE
(Masse 500 grammes)
MILLIONS de BACTÉRIES par GRAMME
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
7
14
21
28
35
42

celui des pots témoins, il reste encore bien supérieur dans les pots contenant 3 kilos de terre et ne redevient égal au témoin qu'au bout de 75 jours.

La seule différence essentielle qui existait entre les deux séries de pots était la condition d'aération nettement meilleure dans le cas des pots de 500 grammes.

L'accroissement plus constant du nombre bactérien après la stérilisation partielle à base de CaS, semble correspondre à des conditions plus anaérobies du milieu, ce qui permet de supposer que la flore bactérienne des terres partiellement stérilisées est caractérisée par la prédominance d'organismes anaérobies.

En outre, ces observations confirment entièrement les données de Russell et Hutchinson sur l'antagonisme existant dans le sol entre sa micro-faune : les Protozoaires, et une partie de la microflore, les Bactéries.

Mais, tout en constatant l'influence heureuse de la stérilisation partielle sur l'accroissement du nombre bactérien d'un sol, il nous paraissait intéressant d'étudier quelles sont les bactéries dont le développement est particulièrement encouragé par ce traitement.

LES COLONIES SYMBIOTIQUES DU CLOSTRIDIUM PASTORIANUM.

L'examen des boîtes de Pétri qui nous servent pour les numérations bactériennes nous révéla constamment un grand nombre de petites colonies ovales légèrement teintées en jaune se développant au fond de l'agar (photographie B, planche 1). L'aspect très caractéristique de ces colonies les rendait facilement reconnaissables (Photo N° 1).

A l'examen, ces colonies se révélèrent comme étant des colonies symbiotiques de Clostridium Pastorianum et de ses compagnons aérobies : α et β.

La présence du Clostridium Pastorianum dans ces colonies fut établie, et l'organisme fut identifié de la façon suivante :

1° La morphologie du Clostridium isolé à partir de ces colonies (photos n°s 2 et 3) correspond exactement à celle du fixateur anaérobie d'Azote décrit par Winogradsky (1902).

2° Ce Clostridium prend le Gram.

3° Le Clostridium en question est un anaérobie strict (Wino-

gradsky). Isolé en race pure, après culture en présence d'hydrogène ou dans tube de Turro, il refusait de se développer en présence d'oxygène.

4° Il se distingue par sa très grande résistance à la chaleur (Omeliansky 1917).

Nous avons pu obtenir un développement en culture en tube en profondeur après un chauffage à 120° pendant une heure, ce qui dépasse sensiblement la résistance à la chaleur du Clostridium, signalée jusqu'à présent.

5° La fermentation butyrique a été observée en ensemençant une colonie symbiotique en profondeur dans des tubes, agar glucosé ou en bouillon.

6° L'organisme en question refusait de se développer sur gélatine; ce milieu, d'après Winogradsky, ne permet également pas le développement du Clostridium Pastorianum.

7° Enfin, ensemencées dans du bouillon dont la composition suit :

2 gr. 5 Peptone }
2 gr. Liebig } par litre d'eau distillée
10 gr. Mannite }

Ces colonies symbiotiques vérifiées sur la présence de l'organisme décrit se montrèrent capables de fixer l'Azote atmosphérique. Comme on peut le voir, dans le tableau suivant, les chiffres d'Azote fixé correspondent à ceux trouvés par Winogradsky pour le Clostridium Pastorianum.

	Azote par 100 cc. de bouillon	Gain en azote par 100 cc. de bouillon
Témoin	0 gr. 0790	
Bouillon + 0,004 ‰ $Mn\,SO_4$ ensemencé par Clostridium Past. + Symbiote β	0 gr. 0814	0 gr. 0024
Bouillon + 0,004 ‰ $Mn\,SO_4$ ensemencé par colonie symbiotique	0 gr. 0831	0 gr. 0041
Bouillon + 0,001 ‰ $Mn\,SO_4$ ensemencé par colonie symbiotique	0 gr. 0817	0 gr. 0027
Une deuxième série d'expériences sur le même bouillon donna les résultats suivants :		
Témoin	0 gr. 0744	
Bouillon + 0,001 ‰ $Mn\,SO_4$ ensemencé par Clostridium Pastorianum + Symbiote β.	0 gr. 0775	0 gr. 0021
Bouillon sans manganèse, ensemencé de la même façon	0 gr. 0750	0 gr. 0006

Pour vérifier la capacité de fixation d'Azote atmosphérique par les colonies symbiotiques en navette, nous avons préféré mettre dans les milieux de culture (aérobies) de l'Azote facilement assimilable (Peptone) en quantité suffisante.

Dans la grande majorité des cas le bon développement des cultures symbiotiques était assuré dans de pareils milieux, ce qui rendait facile le contrôle.

Nous avons pu nous rendre compte que, dans des conditions aérobies, la fermentation butyrique accompagnée de fixation d'Azote se produit difficilement quand l'Azote est présenté sous forme de sels ammoniacaux.

D'ailleurs, ce fait fut constaté par Winogradsky (1902).

On remarque que l'ensemble des propriétés énumérées et surtout le caractère strictement anaérobie de l'organisme décrit le séparent nettement des Clostridium fixateurs d'Azote, de Pringsheim (1909-1910-1913).

Quant à l'étude de la composition et de la structure d'une colonie symbiotique, elle fut poursuivie à l'aide de coupes en série d'inclusion de colonies dans de la paraffine.

Les colonies qui servirent à ces préparations furent obtenues de la façon suivante :

Une colonie symbiotique développée sur une plaque de Pétri, ensemencée par une dilution de terre, fut introduite dans un tube d'agar glucosé. Après que le tube en question eut fermenté, une goutte de liquide provenant de ce tube fut ensemencée dans l'agar d'une boîte de Pétri.

Les colonies symbiotiques développées en profondeur dans la boîte de Pétri furent fixées dans de l'alcool absolu et incluses, après déshydratation, dans la paraffine.

En même temps, on procédait à l'identification du Clostridium, développé en tubes d'agar glucosé.

L'examen des coupes en paraffine des colonies symbiotiques nous fournit les données suivantes :

Une colonie fraîchement développée (première génération sur boîte de Pétri) est composée d'une masse de Clostridium Past. en voie de sporulation, entourée sur les bords d'une pellicule formée par les symbiotes (dans le cas des photos 4, 5 et 6 du bacille β).

Les groupes de spores de Clostridium Past. entourées d'une

couronne formée par les bacilles symbiotes se trouvent parfois isolés en dehors de la masse de la colonie (Photo 7).

La structure interne des colonies obtenues dans une boîte de Pétri (conditions aérobies) en seconde génération, présente un aspect différent de celui de la première.

Dans la masse intersticielle de la colonie formée par les compagnons vivants et les produits de leur désagrégation, on rencontre parfois de rares nids de Clostridium sporulants (Photo n° 8).

D'accord avec les descriptions des phénomènes qui accompagnent la croissance d'une colonie bactérienne donnée par Legroux et Magrou, 1920, nous avons pu constater l'existence de sinus qui découpent les bords d'une jeune colonie symbiotique et les cavités formées quand les bords de ces sinus se rejoignent (Photo n° 9).

En plus de ces cavités d'origine externe, il existe à l'intérieur d'une colonie symbiotique d'autres cavités qui se distinguent par l'absence de toute frange au bord.

Ces cavités semblent bien avoir été formées à l'intérieur de la masse de la colonie. On trouve souvent un nid de Clostridium dans une pareille cavité.

Ces cavités sont probablement dues à un développement de gaz produit par un commencement de fermentation butyrique.

Sur la photographie N° 2, on peut reconnaître plusieurs formes typiques de Clostridium formant une capsule terminale produite à la suite de la sporulation.

Cette photographie a été prise d'une culture pure isolée d'une colonie symbiotique. L'examen microscopique de ces colonies révèle outre les formes en Clostridium, des bâtonnets de 1 mm. à 1 µ ½ de long sur 0 µ 80 de large.

Nous avons classé ce bâtonnet comme étant le bacille β compagnon du Clostridium (Photo n° 10). Dans quelques cas isolés nous nous avons pu observer également un bacille sporogène de 3 à 4 µ de long et 1 µ ½ de large, qui pouvait être le compagnon du Clostridium Pastorianum.

Toutefois, la morphologie de ce dernier se rapprochait assez de certaines formes du Clostridium Pastorianum lui-même; seules les séparations systématiques en cultures pures des colonies symbiotiques nous apportèrent la preuve que la présence

du bacille dans ces colonies est facultative. Sur six cultures obtenues chaque fois par disséminations répétées d'une colonie symbiotique dans l'agar et sur boîtes de Pétri (la technique suivie est indiquée à la fin de l'article), dans 3 cas seulement nous avons pu constater la présence d'une colonie blanche, à bords fortement lobés, formée par le bacille α, tandis que chaque fois des colonies blanches, brillantes, à bords lisses, formées par le bâtonnet β étaient présentes (Photo n° 11). Quant au Clostridium, il n'apparaissait qu'en colonies symbiotiques en navettes dans l'agar des boîtes de Pétri provenant des disséminations des colonies symbiotiques.

MÉTHODES DE DÉTERMINATION DE LA RICHESSE D'UN SOL EN CLOSTRIDIUM PASTORIANUM

Comme nous l'avons déjà mentionné, les plaques d'agar ensemencées par une dilution provenant d'une terre partiellement stérilisée, se distinguent à première vue par l'abondance des colonies en forme de navette, colonies symbiotiques de Clostridium Past.

Pour déterminer le rapport pouvant exister entre le nombre des Clostridium Past. d'une terre traitée à la Sulgine et celui de la même terre non traitée, nous avons entrepris, dans un cas isolé, d'identifier toutes les colonies en profondeur s'étant développées dans les boîtes de Pétri correspondantes aux deux terres.

La terre qui fut l'objet de cette étude (G. Truffaut et N. Bezssonoff 1920) était une terre de jardin. La parcelle traitée reçut 150 grammes d'un mélange stérilisant (Sulfure de calcium + Naphtaline) au mètre carré.

Les ensemencements en boîtes de Pétri furent effectués 80 jours après le traitement.

L'identification faite en cultures isolées des colonies en profondeur développées dans les boîtes de Pétri ensemencées par des dilutions au 1/250.000 des deux échantillons de terre, donnèrent les résultats suivants :

La terre traitée contenait par gramme 5 320 000 Clostridium Past. germés en colonies symbiotiques ; celle non traitée en contenait 1 360 000.

Le rapport entre le nombre des Clostridiums de la terre traitée et celui de la terre témoin se trouvait être de 3 à 1.

L'intérêt de cette première constatation était d'autant plus grand qu'ainsi qu'on l'a vu dans la première partie de ce travail, la richesse en Clostridium Past. de la terre traitée correspondait à une augmentation notable de la quantité d'Azote fixé par cette même terre.

Cependant, pour pouvoir comparer et suivre les nombres de germes de Clostridium Past. dans des terres étudiées, nous ne pouvions continuer à suivre la méthode qui vient d'être indiquée (isolement des colonies en profondeur développées dans l'agar des boîtes de Pétri ensemencées par des terres données). Il est aisé de s'apercevoir des grandes difficultés d'ordre technique liées à l'emploi de cette méthode. Trop lente et pouvant facilement donner lieu à des erreurs d'appréciation, la méthode de cultures en plaque ne pouvait être employée pour l'étude systématique des nombreux échantillons de terre que nous devions examiner.

Tout d'abord, nous avons cherché, non pas le moyen d'établir le chiffre indiquant la totalité des germes de Clostridium existant dans une terre, mais celui permettant d'estimer le nombre de ces germes par une méthode suffisamment rapide et fournissant des résultats constants.

En outre, le mode opératoire choisi devait dès le début faciliter l'isolement en race pure du Clostridium Past. et par conséquent son identification.

Seule une méthode d'ensemencements directs de dilutions de terre en culture anaérobie nous semblait permettre de réaliser les conditions cherchées.

A cet effet, nous ensemençons des dilutions de terre en tubes d'agar glucosé et, après pasteurisation, nous constatons ou non une fermentation ; dans le cas d'une fermentation, nous établissons la présence du Clostridium par des préparations, puis nous contrôlons le pouvoir de fixation d'Azote par des ensemencements en bouillon.

Opérant ainsi, nous avons pu nous convaincre qu'un seul chauffage à 80° pendant 20 minutes des tubes d'agar ensemencés était insuffisant pour assurer des résultats constants ; le développement d'anaérobies facultatifs influence défavorablement la fermentation butyrique. La résistance du Clostridium au chauffage est bien connue (Omelianski, 1917) ; cet organisme

est susceptible de se développer même, après un chauffage à 110° pendant 20 minutes ; on pouvait donc s'attendre à ce que des chauffages à une température plus élevée, en entravant le développement des anaérobies facultatifs, faciliteraient celui du Clostridium.

Cependant, nous avons constaté que deux chauffages à 100° pendant 20 minutes, répétés à 24 heures d'intervalle, diminuent considérablement le nombre des germes de Clostridium pouvant se développer et produire la fermentation butyrique ; ainsi, en moyenne dans ce cas, sur dix tubes ensemencés avec 1 cm³ d'une dilution de terre au 100.000 aucun ne fermente ; sur cinq tubes ensemencés avec une dilution au 1/50.000 un seul tube fermente ; tandis que, en chauffant deux fois à 80° seulement une dilution au 1/100.000 de la même terre, quatre tubes sur dix fermentent.

Nous avons donc cherché à déterminer un mode de chauffage qui, tout en éliminant les anaérobies facultatifs, donne le plus grand nombre de tubes fermentés.

Des essais comparatifs faits avec quinze terres de provenances française, tunisienne et marocaine, nous amenèrent aux procédés suivants :

A. Des dilutions de terre au 1/10.000, 1/100.000, 1/250.000 sont placés pendant 30 minutes dans une étuve à 50°. Pour chacune de ces dilutions 1 cm³ est ensemencé dans un tube d'agar glucosé liquéfié, maintenu entre 65° et 70°. On chauffe tous les tubes ensuite à 75° pendant 20 minutes et on les refroidit brusquement dans un courant d'eau froide.

B. On peut introduire dans les tubes un tampon imprégné de pyrogallate de soude (procédé Wright-Burri), ce qui évite le refroidissement brusque.

Quatorze heures après l'ensemencement on chauffe à nouveau les tubes à 50° pendant 30 minutes et l'on répète cette opération deux fois pour ceux qui, maintenus dans une étuve à 35°, n'auraient pas fermenté.

En employant un stérilisant à base de CaS (15 pour 100) et de $MgCO^3$ (4,5 pour 100) à la dose de 6 g. 66 par kilogramme de terre, dans des pots contenant 3 kilogrs de ce sol, on obtint les résultats suivants :

Tubes refroidis brusquement

	Dilutions	Seize jours après traitement Nombre de tubes		Huit jours après traitement Nombre de tubes	
		fermentés	ensemencés	fermentés	ensemencés
Témoin	1/10 000	5	5	5	0
—	1/100 000	10	3	0	0
Terre traitée....	1/10 000	5	5	3	2
—	1/100 000	10	8	0	0

Tubes avec tampon de pyrogallate
ensemencés 16 jours après le traitement

	Dilutions	Nombre de tubes	
		fermentés	ensemencés
Témoin	1/10 000	3	1
—	1/100 000	10	1
Terre traitée	1/10 000	3	3
—	1/100 000	10	2

Il est à noter que dans toutes nos expériences, nous avons toujours observé une fermentation butyrique plus énergique dans les tubes ensemencés avec des dilutions de terre partiellement stérilisée que dans les tubes témoin (Photo n° 12).

Dans les tubes ayant fermenté on a pu constater la présence de formes bactériennes correspondant à celle du Clostridium ; des bouillons inoculés par des tubes fermentés donnèrent lieu à une fixation moyenne d'Azote de 40 mg. par litre de bouillon.

En outre, dans nos recherches précédentes faites sur plusieurs centaines de tubes, nous n'avons constaté que trois fois une fermentation butyrique dont la cause probable était un bacille différent du Clostridium Past.

On connaît la difficulté qu'éprouvent les spores bactériennes âgées à germer dans les milieux solides. Nos chiffres ne doivent en conséquence représenter que les Clostridium actifs ou venant de sporuler. Toutes choses égales d'ailleurs, le nombre des Clostridium que nous avons trouvés dans un sol se trouvant à une température basse est toujours nettement inférieur à celui que nous constatons dans la même terre lorsque la température dépasse 15°.

Comme on peut le voir, sur 10 tubes ensemencés avec des dilutions de terres témoin, 3 fermentent alors que 7 subissent

la fermentation butyrique dans les terres partiellement stérilisées, et celà 8 jours après le traitement.

Dans ce cas, le rapport entre le nombre de Clostridium des terres traitées et témoin est environ de 3 à 1.

Les rapports sont de 2 à 1 pour la même terre (6 jours après le traitement).

On se rappelle que le rapport établi en se basant sur la détermination des Clostridium dans les boîtes de Pétri était de 3 à 1 (terre traitée comparée avec terre témoin).

Donc les deux méthodes donnent des chiffres du même ordre.

Comme on peut le voir, l'écart entre le nombre de germes de Clostridium indiqué par la méthode des tubes et qui serait dans l'ordre de 100.000 environ et celui de notre première estimation entre 1 et 3 millions est important.

Nous avons rappelé la difficulté qu'éprouvent les spores bactériennes plus ou moins anciennes à germer sur des milieux artificiels tels que la gélose.

Cette difficulté n'existe probablement pas seulement pour les spores.

Les cultures par ensemencements de dilutions de terre en tubes d'agar glucosé ne permettent le développement que d'un nombre de germes de Clostridium Pastorianum bien inférieur à celui existant réellement dans la terre. La dernière méthode que nous avons élaborée pour la détermination de la richesse d'un sol en Clostridium Pastorianum nous a permis de la mettre en évidence.

Cette méthode dont les détails sont donnés dans la technique employée repose sur le principe d'ensemencement de dilution de sol non en agar, mais en fioles remplies de terre stérilisée.

Les fioles ainsi inoculées servent après incubation à l'ensemencement de tubes d'agar glucosé suivant la méthode déjà indiquée. Ce mode opératoire nous á permis d'évaluer jusqu'à 4 millions le nombre de germes de Clostridium dans un gramme de terre.

L'organisme fut isolé en cultures pures par de nombreux essais parallèles.

Cette constatation vient affirmer nos premiers résultats acquis par l'étude des colonies symbiotiques obtenues par ensemencements sur boîtes de Pétri. L'intérêt de ce résultat nous

semble être lié non seulement à notre étude sur la microflore des terres partiellement stérilisées, mais il a une portée plus générale. Il indique que le sol arable est particulièrement riche en germes de Clostridium Pastorianum.

Ce fixateur d'Azote anaérobie paraît être le principal agent de la fixation d'Azote dans le sol. Cette dernière conclusion doit être rattachée au fait suivant : Le nombre maximum de fixateurs d'Azote aérobies «Azotobacter chrooccocum » a été trouvé par Jones et Murdoch (1919), de 1 800 organismes par gramme de terre. Nos propres recherches à ce sujet nous ont donné des résultats du même ordre.

L'influence de la stérilisation partielle du sol a pour effet, non seulement d'augmenter le nombre de Clostridium Pastorianum, mais à ce résultat quantitatif vient s'en ajouter un autre qualitatif.

Nos dernières observations (G. Truffaut et N. Bezssonoff 1921, 4) nous ont permis d'établir que les cultures de Clostridium Pastorianum provenant d'un sol traité par le mélange indiqué (à base de CaS) fixent l'Azote en bouillon avec bien plus d'intensité que celles provenant d'un même sol n'ayant subi aucun traitement.

Nos expériences furent organisées de la façon suivante : deux pots furent remplis avec une terre de jardin (2 kilogs). La terre contenue dans un des pots servit de témoin. L'autre pot fut traité par le mélange stérilisant à base de CaS (6 gr. 66 par kilog de terre) (Sulgine).

8 jours après le traitement, on préleva 10 grammes de terre dans chaque pot, cette terre fut diluée dans de l'eau stérile au 1/10 000 et 1/100 000. 2 tubes d'agar glucosé furent ensemencés par chaque dilution.

Après fermentation de ces tubes, des fioles contenant 150 ccs. de bouillon furent ensemencées et après 22 jours d'incubation à 35°, les dosages d'Azote dans les bouillons donnèrent les chiffres suivants :

Gain d'azote en milligrammes par litre de bouillon

Bouillon ensemencé par culture provenant de terre témoin	dilution 1/10 000.	62	milligrammes
	dilution 1/100 000.	61	—
Bouillon ensemencé par culture provenant de terre traitée	dilution 1/10 000.	60	—
	dilution 1/100 000.	113	—

Dans ce cas, notre attention fut particulièrement fixée par le fait suivant : le bouillon ensemencé par une culture provenant d'une dilution 10 fois plus forte avait fixé 53 milligrammes d'Azote de plus.

Une nouvelle série d'expériences de contrôle fut entreprise. Elle devait vérifier les premiers résultats concernant l'intensification de la fixation d'Azote par des races provenant de terre partiellement stérilisées. En procédant, comme dans la première expérience, nous avons obtenu les chiffres suivants d'Azote fixé par litre de bouillon :

GAIN D'AZOTE EN MILLIGRAMMES PAR LITRE DE BOUILLON

Bouillon ensemencé par culture provenant de terre témoin	dilution 1/100 000.	1 milligramme
Bouillon ensemencé par culture provenant de terre traitée	dilution 1/10 000..	35 —
	dilution 1/100 000.	60 —

Nous constations ainsi à nouveau que le traitement du sol par le mélange stérilisant amenait, 8 jours après l'opération, l'apparition d'une génération de Clostridium Pastorianum fixant l'Azote avec une intensité particulière.

Il est facile de voir que la fixation d'Azote bien plus intense des cultures provenant de terres traitées, ne peut être mise en rapport avec une quantité plus grande de germes, puisque dans la majorité des cas, les dilutions plus faibles 1/10 000 contenant plus de germes, donnèrent une fixation moindre de celle des dilutions 1/100 000 et cela pour la terre traitée comme pour la terre témoin.

INFLUENCE DE LA STÉRILISATION PARTIELLE SUR LES BACTÉRIES AMMONIFIANTES, LES FERMENTS NITRIQUES, ET L'AZOTOBACTER CHROOCCOCUM.

En plus de leur abondance en colonies symbiotiques, les plaques de gélose correspondant aux terres traitées se distinguent par l'abondance de colonies de Bacillus Megatherium Dans un cas une numération fut faite avec identification de ces colonies, le nombre de B. Megatherium se trouva être de 26 % du nombre total des colonies bactériennes de la terre traitée (cas de la stérilisation par le CaS) et de 14 % dans la terre témoin. Le B. Megatherium est classé comme un des ammonifiants les

plus énergiques du sol (Neller 1918). D'autres ammonifiants énergiques (comme le B. Mycoïdes et le B. arborescens) furent toujours identifiés sur les plaques de gélose ensemencées avec la terre traitée, tandis qu'ils n'étaient pas toujours présents, ou qu'ils étaient en quantités bien moindres, dans les plaques correspondant à la terre témoin. Dans un cas isolé nous avons pu constater un pullulement du B. Fluorescens Liq. Flugge dans les terres traitées par l'Ortho-Crésol.

La stérilisation par le Sulfure de calcium semble entraver le développement des ferments nitriques. Elle aurait donc, par rapport à ces organismes, la même influence que celle constatée par Russell et Hutchinson (1909) dans le cas de la stérilisation par la chaleur.

Une série de tubes fut remplie par un milieu favorable au développement de ces ferments. Le milieu fut préparé de la façon suivante :

Phosphate de potasse	1 gr.	A 50 cc. de ce milieu on ajoute 0 gr. 5 de Co_3Ca et 5 ccs. d'une solution de Sulfate d'ammoniaque à 2 %.
Chlorure de calcium..	0 gr. 1	
So_4Mg...............	0 gr. 3	
NaCl................	0 gr. 1	
Chlorure de fer.....	0 gr. 01	
H_2O................	1 litre	

Les tubes furent inoculés avec de la terre traitée à la Sulgine (3 jours après le traitement) et de la terre témoin.

2 mois après, les tubes éprouvés à la réaction de diphénylamine donnèrent la coloration bleue dans la proportion suivante :

60 % des tubes de terre témoin
et 40 % des tubes de terre traitée

En ce qui concerne le B. Subtilis, ce ferment ammonifiant semblait être présent en même proportion dans la flore des terres traitées et témoin.

Nous croyons devoir ajouter une donnée qui résulte d'expériences actuellement en cours et qui nous apparaît d'une importance fondamentale en ce qui concerne la microflore des terres partiellement stérilisées. Les différentes races et variétés d'Azotobacter, organismes aérobies fixateurs d'Azote, étaient considérées par la grande majorité des bactériologistes comme étant asporogènes. Nous pensions tout d'abord que la stérilisation

partielle du sol serait défavorable au développement de ces organismes.

Nos observations récentes semblent donner une indication contraire. Parallèlement au développement du Clostridium Pastorianum, celui des Azotobacter semble être intensifié dans les terres après la stérilisation partielle par des composés à base de Sulfure de calcium. Voici nos observations :

Nous avons pris deux pots de 20 centimètres de diamètre contenant chacun 3 kilogs de terre riche en Azote. L'un de ces pots fut utilisé comme témoin, l'autre reçut 6 gr. 66 par kilog du mélange partiellement stérilisant ayant la composition ci-dessous :

24 gr. CaS à 62 (5 gr. de CaS pur)	29 gr. Plâtre
10 gr. CO_3Mg	2 gr. Urée
6 gr. SO_4K_2	0 gr. 25 SO_4Zn
30 gr. Craie phosphatée.	0 gr. 25 SO_4Mn

Huit jours après le traitement furent prélevés dans chacun des pots deux échantillons de 10 grammes ; une dilution à 1/1 000 fut préparée pour chacune des terres et inoculée dans deux séries de 20 tubes contenant une solution mannitée favorable au développement de l'Azotobacter (voir la technique employée).

Après 28 jours d'incubation à l'étuve à 22° on pouvait constater la formation d'une pellicule brunâtre qui caractérise l'Azotobacter chrooccocum dans 10 des tubes inoculés avec la solution de la terre qui avait été partiellement stérilisée à la Sulgine. Dans la terre témoin il n'y avait qu'un tube sur 10 qui montrait le développement de la pellicule caractéristique.

L'examen microscopique de la pellicule a confirmé qu'elle était bien formée par des Azotobacter, avec leurs zooglées caractéristiques correspondant exactement à celles des types A et D figurés dans le travail de Lohnis et Smith (1916) (Photos 13, 14 et 15).

INFLUENCE DE L'ACIDITE OU DE L'ALCALINITÉ ABSOLUE DU SOL SUR LES EFFETS DE LA STÉRILISATION PARTIELLE

A l'aide de l'appareil à électrode saturée d'Hydrogène, du type mis en pratique par Sörensen (1912) pour la mesure des concentrations en ions H dans les milieux biologiques, nous avons

déterminé l'indicateur Ph (1) de Sörensen de 4 terres partiellement stérilisées, par des mélanges à base de 15 % de CaS.

Ces quatre terres choisies étaient entièrement différentes.

Provenance des terres	Ph.	Azote par kg. de terre fine et sèche au début de l'expérience	Augmentation de rendement des récoltes après traitement à la Sulgine
1 — Tourbe de Villers (Oise)......	5,15	20,0	120 %
2 — Limon des Plateaux, Chesnay (S.-et-O.)........................	5,95	2,72	111 %
3 — Terre de Jardin, Versailles..	7,27	1,12	173 %
4 — Terre de Jardin, Versailles...	7,44	1,88	166 %

Ainsi par le traitement à la Sulgine les deux terres acides donnent une augmentation de rendement nettement inférieure à celle obtenue avec les terres neutres ou faiblement alcalines.

Le petit nombre des données ne permet pas d'établir exactement le degré d'acidité du sol le plus favorable à l'action de la stérilisation partielle.

Mais, en tous cas, ces quelques observations semblent indiquer qu'il faut saturer tout d'abord l'acidité du sol par l'addition de $CaCo_3$ si on veut observer le maximum d'efficacité dans les opérations de stérilisation partielle.

Ainsi dans les sols à Ph acide, l'augmentation de la récolte à la suite de la stérilisation partielle est négligeable, quoique le Ph soit loin de montrer un degré d'acidité nuisible à la végétation.

Par contre, le meilleur effet de la stérilisation fut observé dans des sols faiblement alcalins, pratiquement neutres. Il serait prématuré de baser des conclusions sur des données aussi peu nombreuses, mais il est permis de voir là une indication intéressante, d'autant plus qu'il a été observé (Geiney 1911) qu'un Ph plus acide que 6 est défavorable au développement de l'Azotobacter.

(1) Rappelons que l'indicateur Ph. de Sörensen est l'exponentiel de la concentration en grammes des ions H contenus dans 1 litre de liquide à mesurer. Ainsi dans l'eau distillée il y a $10^{-7.07}$ de grammes d'ions par litre, ce qui s'exprime par Ph = 7.07. Il est évident que tous les chiffres de valeur numérique supérieure à 7.07 indiqueront une réaction plus alcaline et que ceux se trouvant au-dessous correspondent à une réaction acide.

RÉSUMÉ

MICROFLORE DES TERRES PARTIELLEMENT STÉRILISÉES

Les expériences faites en pots avec le mélange stérilisant à base de CaS permettent d'établir les particularités suivantes qui distinguent la Microflore des terres traitées de celle des terres témoin:

1° Abondance des Clostridium Pastorianum, fixateurs d'Azote, les plus répandus dans la terre. La proportion des germes du Clostridium Past. dans la flore bactérienne de la terre traitée étant jusqu'à trois fois plus grande que celle trouvée dans la terre témoin.

2° Fixation d'Azote par le Clostridium Past. rendue plus énergique par l'influence du traitement du sol par le mélange stérilisant à base de Sulfure de calcium.

3° Intensification du développement des Azotobacter chroococcum.

4° Richesse de la flore bactérienne de la terre traitée en ferments ammonifiants, tels que le B. Megatherium, B. Mycoïdes, B. Arborescens.

5° La diminution du nombre total des Protozoaires dans la terre traitée au cours des 75 jours.

6° Augmentation totale du nombre bactérien au cours de la même période.

AUGMENTATION DES RÉCOLTES ET GAIN EN AZOTE DES TERRES PARTIELLEMENT STÉRILISÉES

Expérience faite en pots conservés en serre, sur Pavots. Durée de l'expérience : 80 jours (Expérience n° 7, 2e série)

La teneur en Azote dans le sol à la fin de l'expérience est égale à :

	Azote par kg. de terre fine et sèche après expérience
Témoin	2 gr. 66
Sulgine	2 gr. 88

Le poids des récoltes vertes et le rendement sont les suivants :

	Poids. Récolte verte par pot	Rendement
Témoin	27 gr.	100
Sulgine	117 gr.	433

**Expérience faite en pots, en plein air, sur Moutardes
Durée de l'expérience : 40 jours (N° 8, 2e série)**

Stérilisants employés : CaS
CaS + Mn + Zn.

Poids de la récolte verte et poids de la récolte sèche :

	Récolte verte	Récolte sèche
Témoin	3 k. 335	0 k. 575
CaS	4 k. 540	0 k. 653
CaS + Mn + Zn	5 k. 360	0 k. 723

L'Azote dans la récolte est égal à :

Témoin	15 gr. 29
CaS	13 gr. 97
CaS + Mn + Zn	21 gr. 27

Teneur en Azote dans terres témoin et traitée au début et à la fin de l'expérience.

	Azote dans le sol par kilog de terre fine et sèche	
	au début	à la fin
Témoin	1,12	1,340
CaS	1,12	1,243
CaS + Mn + Zn	1,12	1,382

Influence du Manganèse sur l'action du mélange stérilisant à base de CaS.

L'emploi d'un mélange stérilisant à base de CaS + Mn + Zn donne un poids de récolte sèche légèrement supérieur à celui obtenu par l'emploi du Nitrate de soude, et se rapprochant de celui obtenu par le Sulfate d'ammoniaque (le poids de CaS pur employé était environ la moitié du poids du Nitrate de soude et de celui du Sulfate d'ammoniaque).

Le même stérilisant sans Manganèse donne des résultats nettement inférieurs, ainsi :

	Récolte Poids sec	Rendement Poids sec
Témoin	0 k. 575	100
CaS	0 k. 658	114
CaS + Mn + Zn	0 k. 723	125
Nitrate de Na	0 k. 711	133
Sulfate d'ammoniaque	0 k. 767	133

Expérience en pleine terre sur Blé, Scaroles, Navets
Durée de l'expérience : 14 mois
(Expérience n° 9, 2e série)

Stérilisants employés : Sulgine (Naphtaline, Carbures aromatiques).
Sulgine-Cymène.

Teneur en Azote des terres témoin et traitées à la fin de l'expérience.

	Azote par kilog de terre fine et sèche après expérience
Témoin	1 gr. 40
Sulgine et Sulgine-Cymène	1 gr. 58

Les récoltes furent pesées à l'état frais et les résultats sont les suivants :

Blé	Témoin	100
	Sulgine	105,2
	Sulgine-Cymène	123,7
Scaroles	Témoin	100
	Sulgine-Cymène	212
Navets	Témoin	100
	Sulgine	381
	Sulgine-Cymène	109

RÉSUMÉ

Le traitement du sol par des mélanges stérilisants au cours d'expériences faites dans des conditions de pratique agricole, ont montré que l'augmentation de la récolte était accompagnée d'un enrichissement du sol en Azote.

1° Ainsi une augmentation de rendement sur des Moutardes (exp. n° 8) de 25 % (en plus de témoin) correspond à un gein d'Azote de 23 % par rapport à la quantité d'Azote initial dans le sol.

2° Dans l'expérience n° 9, une augmentation de rendement moyenne de 86 % était accompagnée d'un enrichissement du sol en Azote de 13 % par rapport à la quantité d'Azote trouvée dans le sol au début de l'expérience.

3° L'emploi des mélanges stérilisants à base de CaS, en terre, donne lieu à une augmentation de récolte qui a atteint jusqu'à 333 % (expérience n° 7).

4° Malgré une aussi forte augmentation de rendement, la

terre partiellement stérilisée, non seulement ne s'appauvrit pas en Azote, mais au contraire montre un gain en Azote de 12 0/0 par rapport au chiffre d'Azote initial.

REMARQUES SUR LA TECHNIQUE EMPLOYÉE (MICROBIOLOGIE)

Les numérations totales de bactéries contenues dans 1 gr. de terre furent faites d'après la méthode indiquée par le Dr H. B. Hutchinson.

10 grammes de terre sont dilués dans 250 cc. d'eau stérile, et secoués pendant 4 minutes.

1 cc. de cette première dilution est introduit dans 100 ccs d'eau stérile au moyen d'une pipette stérile.

1 cc. de cette deuxième dilution est introduit dans 100 cc. d'eau stérile au moyen d'une pipette stérile.

On ensemence alors des tubes d'agar nutritif liquéfié et maintenu aux environs de 45°, ou de gélatine nutritive, avec 1cc. de cette dernière dilution au 1/250 000. On verse alors en boîtes de Pétri, et on laisse incuber dans une étuve à 20°.

Les numérations de Protozoaires furent faites d'après la méthode employée par D. W. Cutler à Rothamsted (Méthode de dilution et ensemencements sur boîtes de Pétri et tubes contenant de l'agar nutritif).

L'isolement des races pures de Clostridium Past. fut fait :

1° *En tubes de Turro.*

On ensemença 10 cc. d'agar nutritif avec une colonie symbiotique macérée dans 1cc. d'eau stérilisée. On chauffa à 75°, pendant 20 minutes, et on introduisit cet agar dans des tubes de Turro. On versa 5cc. de solution de Pyrogallate de soude à 15 %, et on luta les tubes à la paraffine. Ces opérations sont répétées jusqu'à isolement en culture pure du Clostridium Pastorianum.

2° *Dans le vide et dans une atmosphère d'Hydrogène.*

Dans ces deux cas, on employa des boîtes de Pétri servant aux numérations bactériennes habituelles (diamètre 10 cm.) ensemencées comme précédemment avec une dilution de terre au 1/250 000 et au 1/50 000. On obtint des cultures pures de

Clostridium Past. de cette façon, en combinant ce procédé de cultures anaérobies avec des réensemencements et chauffages répétés à 75°.

MÉTHODE D'ENSEMENCEMENTS DE DILUTIONS DE TERRE EN TERRE STÉRILE, POUR OBTENIR LES CHIFFRES MAXIMA DES GERMES DE CLOSTRIDIUM PASTORIANUM.

La méthode employée fut la suivante :

On met 150 grammes de terre fine et sèche dans des fioles d'Erlenmeyer. Puis on prépare une solution contenant : eau distillée, 5 % de Mannite, et 0,0004 % SOMn. On ajoute cette solution à la terre jusqu'à obtenir un pourcentage de 25 %. On ajoute 1 gramme de $CaCO_3$.

Puis on stérilise à l'autoclave 3 heures à 120°, et on vérifie la stérilité de cette terre.

La terre à étudier est alors diluée au 1/1million, 2 millions, 4 millions, etc... puis 10 ccs. de chaque dilution sont introduits dans les fioles de terre stérile préparées comme ci-dessus.

Après 8 jours d'incubation à 22°, on ensemence des tubes d'agar glucosé en profondeur par un peu de ces terres.

Les tubes sont gardés à 36°, dans une étuve, et ceux qui fermentent sont vérifiés sur la présence du Clostridium Pastorianum.

Pour déterminer les organismes aérobies vivant en symbiose avec le Clostridium Pastorianum, on macéra une colonie symbiotique dans 1 cc. d'eau stérile. Une boucle de platine de cette première dilution fut introduite dans un autre centimètre cube d'eau stérile. On inocula des tubes d'agar nutritif avec la contenance d'une boucle de platine de cette dernière dilution, et on versa dans des boîtes de Pétri.

Les colonies développées sur la surface de la gélose furent disséminées de nouveau.

La séparation du bâtonnet de β son symbiotique, le Clostridium Pastorianum, exigea 16 disséminations et réensemencements successifs.

L'identification des B. Mycoïdes, B. Arborescens, B. Megatherium, Subtilis, au cours des numérations bactériennes des terres, se base sur :

1° Morphologie — motilité;

2° Aspect typique des colonies en gélose;

3° Cultures sur pommes de terre;
4° Culture sur bouillon;
5° Culture sur gélatine;
6° Coloration au Gram;
7° Coloration des spores;
8° L'ébullition (résistance à) ½ heure.

Les propriétés bien caractérisées des bactéries citées ci-dessus nous permettent d'employer un procédé aussi sommaire pour leur identification.

COMPOSITION DU MILIEU EMPLOYÉ POUR LA CULTURE DES AZOTOBACTER [1]

A une première solution contenant :

SO_4Mg	0 gr. 2
$NaCl$	0 gr. 2
$CaSO_4$	0 gr. 1
H_2O	800 ccs.

on ajoute une autre solution contenant :

H_2O	100 ccs.
+ KH_2PO_4	0 gr. 2

On neutralise avec une solution de Na OH. On complète à 1 000 ccs. Par litre de solution ainsi préparée on ajoute :

10 gr. de Mannite et
1 gr. de $CaCo_3$

DOSAGES D'AZOTE

Dans la terre. — Tous les dosages furent effectués sur la terre fine. On détermina le degré d'humidité en même temps qu'on fit le dosage d'Azote sur un échantillon desséché à l'étuve à 60°.

Afin de pouvoir doser l'Azote total le dosage fut fait à l'aide de l'acide phénol-sulfurique (en présence de mercure) et ensuite traité au Kjeldhal.

La teneur d'une terre en Azote est la moyenne de 4 dosages différents.

Dans les récoltes. — Les récoltes furent d'abord desséchées à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant et le dosage d'Azote fut effectué comme dans les terres.

---

(1) Milieu employé par le Dr H. B. Hutchinson.

MÉTHODE D'ANALYSE DU SULFURE DE CALCIUM

1) DOSAGE DE CaS (Sulfure de calcium).

Dissoudre 0 gr. 1 de substance avec 20 cc. d'eau dans un bécher. Ajouter 25 cc. d'iode N/10, puis on ajoute lentement et en agitant 2 cc. d'acide acétique pur.

Au bout de deux ou trois minutes ajouter 100 cc. d'eau et titrer goutte à goutte avec $S^2O^3Na^2$ — N/10 (Hyposulfite de soude).

Par différence on a le nombre de cc. d'I N/10 employés 1 cc. N/10 d'I × 0.0036 CaS.

2) DÉTERMINATION DE PETITES QUANTITÉS D'HYPOSULFITE DE CALCIUM DANS UN SULFURE DE CALCIUM COMMERCIAL (Méthode employée aux Laboratoires G. TRUFFAUT par M. S. Wajnberg).

La méthode est basée sur la séparation du sulfure de calcium partiellement transformé en présence d'eau en sulfhydrate de sulfure soluble, de l'hyposulfite de calcium, par précipitation à l'état de sulfure de zinc.

MODE OPÉRATOIRE

Deux grammes de sulfure de calcium sont traités dans un bécher par 100 cc. d'eau. On agite quelques minutes à froid et on filtre dans un ballon de 200 cc. On lave avec 50 centimètres cubes d'eau ; on ajoute un gramme d'acétate de soude, puis 2 grammes de sulfate de zinc, et on complète à 200 cc. avec de l'eau. On filtre sur un filtre sec.

On relève 100 cc. du filtrat auquel on ajoute 10 cc. d'iode N/10 et on titre par l'hyposulfite de sodium ; la différence donne le nombre de centimètres cubes d'iode N/10 employés.

Un centimètre cube d'iode N/10 correspond à 0,0152 d'hyposulfite de calcium.

% Ca^2SO^3 = nombre de centimètres cubes d'iode N/10 + 0,0152 × 100.

DÉTERMINATION DE L'ACIDITÉ ABSOLUE D'UNE TERRE

250 grammes de terre sont mélangés avec 500 cmc. d'eau distillée. On agite tout d'abord pendant une heure à l'agitateur mécanique, puis on centrifuge pendant ½ heure à 2 000 tours ;

on obtient ainsi un liquide transparent qui sert à la détermination du Ph (Méthode Sörensen) (avec la collaboration de M. L. Gouthière).

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les expériences et considérations qui précèdent tendent vers la conclusion générale suivante :

En traitant la terre par certains stérilisants chimiques on peut assurer la nutrition azotée des plantes sans employer d'engrais azotés, tout en augmentant le taux d'Azote du sol.

L'Azote utilisé alors par les récoltes est en partie de l'Azote atmosphérique fixé par des bactéries. L'heureux effet de la stérilisation partielle du sol repose donc sur deux principes essentiellement différents :

1° Stérilisation partielle proprement dite, c'est-à-dire une stérilisation qui, étant effective, seulement pour une certaine partie de la microflore et de la microfaune du sol, assure par cela même le meilleur développement de la microflore ayant résisté au traitement.

Une telle stérilisation a pour effet d'éliminer les microbes indifférents, certains organismes nuisibles (protozoaires), ainsi que de déprimer le développement des insectes et des larves, tout en conservant des bactéries particulièrement utiles à l'assimilation de l'Azote de l'air, telles que le Clostridium Pastorianum et l'Azotobacter Chroococcum, fixateurs d'Azote, et des organismes ammonifiants tels que le B. Megatherium, le B. Mycoïdes, etc...

Son action peut donc être résumée en deux mots : sélection microbienne.

L'un des effets de cette sélection est d'entraver le développement des ferments nitreux et nitriques.

L'intensification de la production ammoniacale et la diminution de la nitrification semblent devoir être mises en rapport avec les heureux effets de la stérilisation sur les récoltes. Toutes les recherches depuis Mazé 1901, Hutchinson et Miller 1909-1912, Prianichnikoff 1916, établissent nettement qu'une nutrition azotée est plus favorable aux plantes quand l'Azote est fourni sous forme ammoniacale que sous forme de Nitrate.

De plus, l'ammoniaque mobilisée par la stérilisation par-

tielle provient de combinaisons organiques peu solubles, tandis que la nitrification entraîne toujours un appauvrissement d'Azote par les eaux de drainage (André, 1913).

2° Le mélange stérilisant doit contenir des substances favorisant le développement des bactéries utiles (fixateurs directs d'Azote : Clostridium Pastorianum et Azotobacter et organismes ammonifiants).

Le stérilisant idéal doit apporter au sol les éléments chimiques qui le transformeront en « bouillon de culture » pour les espèces bactériennes désirables. En plus de l'utilité de la présence de certains éléments chimiques, une condition physico-chimique : l'acidité ou l'alcalinité absolues du sol, paraissent jouer un grand rôle dans l'efficacité pratique de la stérilisation partielle. Moins sensible à l'acidité que l'Azotobacter, le Clostridium Past. nécessite cependant, pour donner le meilleur rendement en Azote, une acidité limite.

APPLICATIONS AGRICOLES

Dans des terres alcalines ou acides, corrigées par un marnage, la stérilisation partielle effectuée à l'aide de mélanges à base de Sulfure de calcium (et cela à l'époque où la température du sol devient convenable : réveil de la végétation) pourra se substituer à l'emploi des engrais azotés, même de ceux à action rapide.

Elle permettra la création de nouveaux engrais sans Azote et à Acide phosphorique insoluble, plus économiques et aussi efficaces que les engrais actuels à Azote et à Acide phosphorique soluble.

Le résultat pratique est une augmentation des récoltes qui atteint en moyenne de 30 à 60 %, selon nos expériences, dans des conditions économiques plus satisfaisantes que celles que l'on réalise actuellement par l'emploi des engrais azotés complémentaires.

LITTÉRATURE

BERTHELOT .... Chimie végétale et agricole, 1899. Paris.

BLANCHETIÈRE .... Action du Bacille Fluorescens Flugge, sur certains amino-acides, en milieu chimiquement défini. Soc. Chimie biol. N° 1 T II. p. 29. 1920.

BREDEMAN .... Centralblatt f. Bakt. II Ab. Bd XIII N° 14 20. p. 478. 1909.

BRUNO .... L'évolution de l'agriculture. Chimie Industrie Vol. 4. N° 5, p. 673. Nov. 1920.

CUTLER (D. W.) .... Observations on soil Protozoa. Journal of Agr. Science. Vol. IX, part IV. October 1919.

CUTLER (D. W.) .... A method for estimating the number of active Protozoa in the soil. Journal of Agr. Science. Vol. X. part II. April 1920.

CUTLER and CRUMP .... Daily periodicity in the numbers of active flagellates, with a brief note on the relations of trophic amœba and bacterial numbers. Annals of applied Biology. Sept. 1920.

FELLERS and ALLISON .... Protozoan fauna of New-Jersey soils. Soil Science. Vol. IX. N° 1. 1920.

GEINEY .... Soil reaction and the growth of Azotobacter. Journal of Agr. Research. Vol. 39. p. 723. N° 7, p. 265. 1918.

HILTNER und STORMER .... Arbeiten der Biol. Abteilung f. Land u. Forstwirt Bd. 3 5. 1903.

HUTCHINSON (H. B) and MILLER The direct assimilation of inorganic and organic forms of Nitrogen by higher plants. Journal of Agr. Science. Vol. IV. p. 3, Janv. 1912.

JOHNSON .... The influence of heated soils on seed germination and plant growth. Soil Science. Vol. VII. p. 1. 1919.

JONES and MURDOCH .... Quantitative and qualitative bacterial analysis of soil samples. Soil Science. Vol. VII N° 3, p. 259. Sept. 1919.

KOCH A. .... Uber die Wirkung von Aether und Schwefelkohlenstoff auf hohere und niedere Pflanzen. Centralblatt f. Bakt, Alt. 2 Bd. 31, p.175, 1912.

KOCH (G.) .... Activity of Soil Protozoa. 1915. Journal of Agr. Research. Vol. V, 1915. N° 11, p. 477.

Kopeloff and Coleman ..... A review of investigations in soil protozoology and soil sterilisation.
Soil Science. Vol. III. N° 3, p. 197, 1917.

Lathrop .... Nitrogenous compounds in soil and manures. (Bull. of Franklin Institute 183, p. 169, d'après le Centralblatt f. Biochem. Février 1917. B. XXII. 1920).

Legroux et magrou .... Annales de l'Institut Pasteur.
Tome 34, N° 7, p. 28, 1920.
État organisé des colonies bactériennes.

Liebscher .... Sur l'action azotée de la stérilisation partielle. Deut. Landw. Presse N° 4, p. 976.

Lipmann and Burgess ...... Studies of Ammonification in soil by pure cultures. Agronomical Science, Vol. I, p. 141, 1914.

Lohnis and Smith .... Life cycles of bacteria.
Journal of Agr. Science. Vol. VI, N° 18, p. 675, 1916.

Martin and Lewin .... Notes on some methods for examination of soil Protozoa.
Journal of Agr. Science, Vol. VII, 1915.

Matthews .... The determination of Ammonia in soils. 1920, Journal of Ag. Science, Vol. IX, part I, p. 72.

Malpeaux .... Desinfection et stérilisation partielle du sol. Vie agr. et rurale, T. 16, N° 6, p. 94, 1920.

Miège .... Désinfection du sol.
Progrès agr. et vit, 41, p. 133, 1920.

Mazé .... Annales de l'Institut Pasteur, 1900-1901. Vol. 14, p. 26. Influence de l'azote nitrique et ammoniacal sur le développement du Maïs.

Marchal .... Sur la production de l'ammoniaque dans le sol par les microbes. Bulletin de l'Académie des Sciences belges. Tome 25, p. 727, 1893.

Neller .... Studies on the accumulation of ammonia by soil organisms.
Soil Science, Vol. V, N° 3, p. 225, 1918.

Omeliansky .... Archives des Sciences biolog. Saint-Pétersbourg. Tome 19, N° 3, p. 209.

Olaru .... Rôle du Manganèse. Thèse, Paris 1920.

Prianichnikoff .... Du rôle de l'ammonification dans les métamorphoses des matières azotées chez les plantes.
Recueil d'articles scientifiques dédiés au Prof. Clément Timiriazeff (Moscou, 1916).

Pringsheim .... Mitt. in deuts. Landw. ges. 1913, p. 295.
Communications sur les Clostridium assimilant l'Azote.

PRINGSHEIM .... Centralblatt f. Bakt, part II, T. 26, p. 222, 1910.

RUSSELL (E. J.) and HUTCHINSON The effects of partial sterilisation of soil on the production of plant food. The limitation of bacterial numbers in soils and its consequences.
Journal of Agr. Science. Vol. III, p. 111, 1909. Vol. V, p. 152, 221, 1913.

RUSSELL and PETHERBRIDGE... On the growth of plants in partially sterilised soils. Journal of Agr. Science, Vol. V. p. 248, 1913.

RUSSELL (E. J.)............... Journ. Roy. Hort. Soc. 1920. Nos 2-3, p. 237-246. The partial sterilisation of soils.

SORENSEN .... Ergebnisse der Physiologie, 1912.

SHARP and HOAGLAND.......... Acidity and absorption in soils as measured by the Hydrogen electrode. Journal of Agr. Research, Vol. VII, p. 123, 1916.

STEVENS and WITHERS .... Centr. f. Bakt. Part II, T.2 3, p. 784, 1909.

SCHMIDT and HOAGLAND ...... Table of Ph. values corresponding to electromotive forces determined in Hydrogen electrode measurements. Univ. Cal. Publ. Physiol, V. No 4, 23.

TRUFFAUT (G.) et N. BEZSSONOFF Comptes rendus de l'Académie des Sciences.

TRUFFAUT (G.) et N. BEZSSONOFF Tome 170, page 1278, 1920.

TRUFFAUT (G.) et N. BEZSSONOFF — 171, page 268.

TRUFFAUT (G.) et N. BEZSSONOFF — 171, page 1089.

TRUFFAUT (G.) et N. BEZSSONOFF — 173, page 868, 1921.

WAKSMAN .... Protozoa as affecting bacterial activities in the soil. Soil Science, Vol. I, No 4, 1916.

WINOGRADSKY .... Fixation de l'Azote gazeux par les micro-organismes. Comptes rendus. Ac. Sc., T. 116, p. 1 385, 1893.

WINOGRADSKY .... Centralblatt f. Bakt. Vol. IX, part. I, p. 44-107, 1902.

WYANT (Z.).................. A comparison of technic recommended by various authors for quantitative bacteriological analysis of soil.
Soil Science, Vol. XI, No 4, p. 295, 1921

IMP. KAPP, PARIS.

PLANCHES

Description des Microphotographies.

PLANCHE I

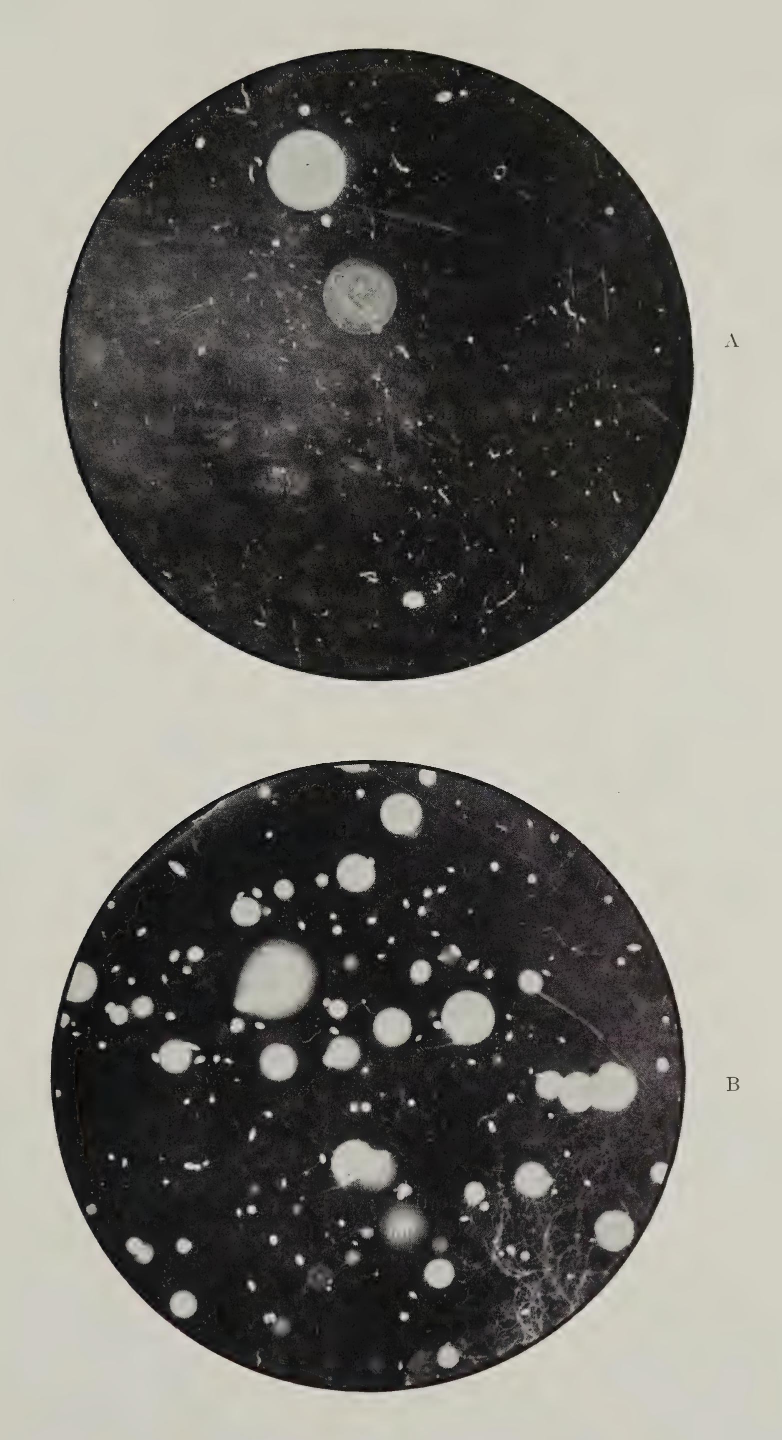
A.

Boîte de Pétri montrant les colonies développées sur agar ensemencé par une dilution de terre témoin, au 1/250.000.

B.

Boîte de Pétri montrant les colonies développées sur agar ensemencé par une dilution au 1/250.000 de la même terre, 8 jours après la stérilisation partielle par la Sulgine.

PLANCHE I



Georges Truffaut et N. Bezssonoff
Annales des Laboratoires Georges Truffaut. — N° 1

Description des Microphotographies.

PLANCHE II

Nº 1.

Colonie symbiotique de Clostridium Pastorianum et de Bacterium β, sur plaque de gélose. — Grossissement : 20 fois (voir planche I, en B, ces colonies grandeur naturelle).

Nº 2.

Clostridium Pastorianum en voie de sporulation. Culture isolée sur gélose, en milieu anaérobie, Coloration au gram. — Grossissement : 2.000 fois,

Nº 3.

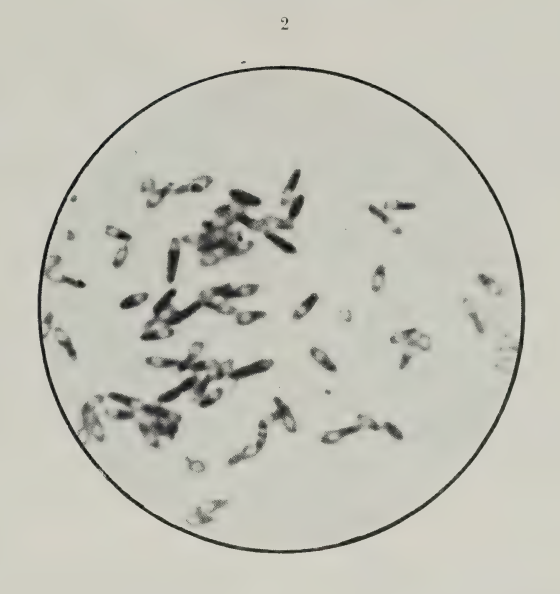
Clostridium Pastorianum présentant d'autres caractères morphologiques (bâtonnet légèrement incurvé à une extrémité). — Coloration au gram, même culture. — Grossissement : 2.000 fois.

Nº 4.

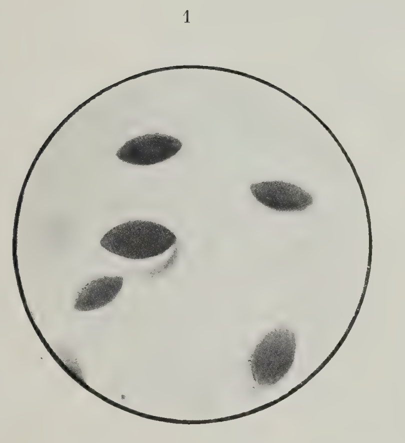
Coupe d'une jeune colonie symbiotique (figure nº 1) de Clostridium Pastorianum (inclusion dans la paraffine). Au centre, cavité dans la masse bactérienne. On remarque des Clostridium en sporulation. — Coloration au gram. — Grossissement : 2.000 fois.

Préparations : M. Perey.
Microphotographies : L. Gouthière.
Objectifs Stiassnie. 1/18.

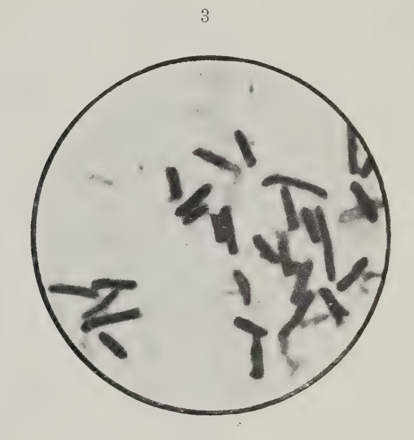
2



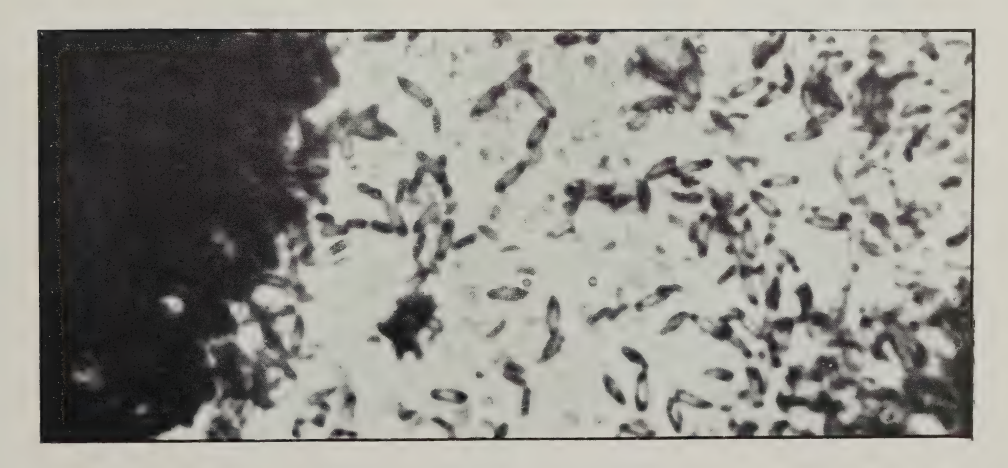
1



3



4



Description des Microphotographies.

PLANCHE III

N° 5.

Microphotographie du même endroit de la coupe que dans la figure 4, mais à un plus faible grossissement (800 fois). La couche grise externe (Bacterium β gram négatif) et la couche interne plus foncée (Clostridium Pastorianum gram positif), d'une colonie symbiotique, sont visibles. — Coloration au gram.

N° 6.

Bord d'une colonie symbiotique. Pellicule externe formée par les bacilles symbiotes β. Vers l'intérieur, groupes de Clostridium Pastorianum en sporulation et spores déjà formées, dans la masse interstitielle (coupe d'une colonie après inclusion dans la paraffine). — Coloration au gram. — Grossissement : 1.000 fois.

N° 7.

Spores de Clostridium Pastorianum, entourées d'une couronne de bacilles aérobies α et β, et où les bacilles α dominent, isolés de la surface d'une colonie symbiotique. — Coloration au gram. — Grossissement : 2.000 fois.

N° 8.

Nid de Clostridium Pastorianum isolé dans la masse interstitielle d'une vieille colonie symbiotique (coupe dans la paraffine). — Coloration au gram. — Grossissement : 1.500 fois.

N° 9.

Sinus externe découpant les bords d'une colonie symbiotique et formation de cavités provenant des sinus externes (coupe dans la paraffine). — Grossissement : 600 fois.

Préparations : M. Perey.
Microphotographies : L. Gouthière.
Objectifs Stiassnie.


5
6
7
8
9

Description des Microphotographies.

PLANCHE IV

N° 10.

Bacterium β, compagnon aérobie du Clostridium Pastorianum, en culture pure isolée sur gélose, en boîte de Pétri. — Coloration à la fuchsine. — Grossissement : 1.000 fois

N° 11.

Colonies du bacterium β en culture pure sur plaque de gélose. — Grandeur naturelle.

N° 12.

Fermentation butyrique dans deux tubes d'agar glucosé, ensemencés par une dilution au 1/100 000 :

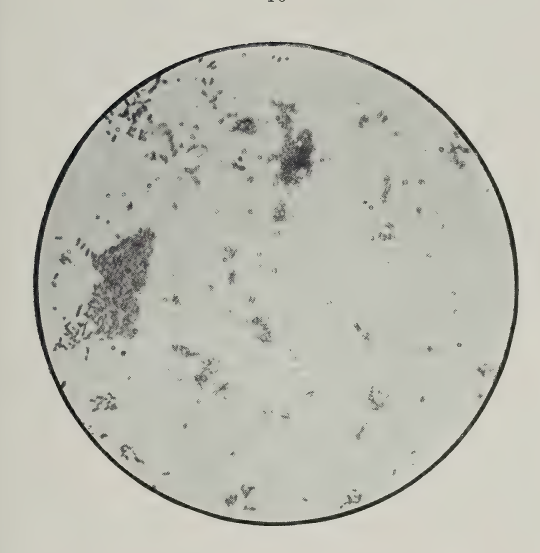
1) d'une terre témoin, tube A ;

2) de la même terre partiellement stérilisée, tube B.

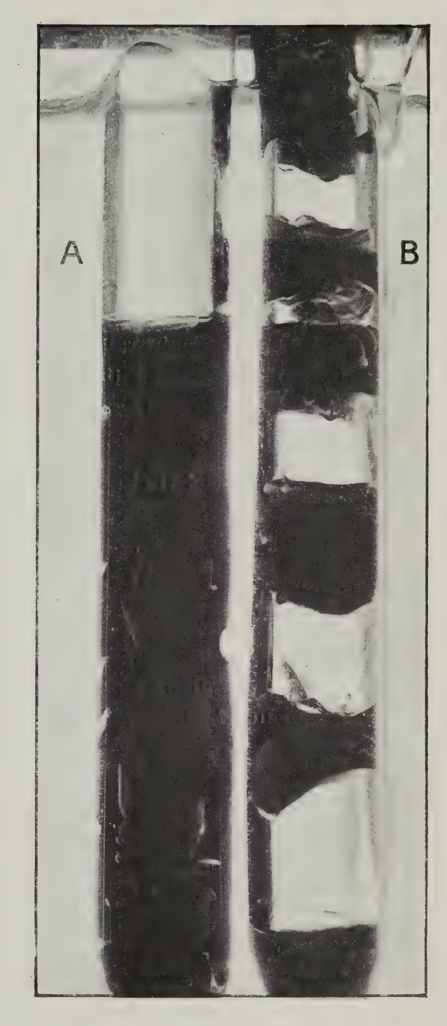
Préparations : M. Perey.
Microphotographies : L. Gouthière.
Objectifs Stiassnie.

PLANCHE IV

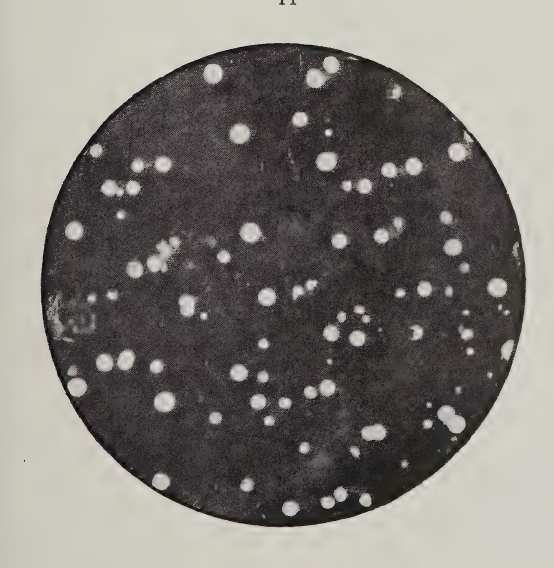
10



12



11



Description des Microphotographies.

PLANCHE V

N° 13.

Azotobacter chrooccocum (Beijerinck). Culture en solution de mannite, préparation faite dans la zooglée. Types A et D de Löhnis. — Coloration à la fuchsine. — Grossissement : 1.000 fois.

N° 14.

Azotobacter chrooccocum. Type I de Löhnis. Culture sur gélose mannitée. — Coloration au nitrate d'argent. — Grossissement : 1.500 fois.

N° 15.

Azotobacter chrooccocum, 2e génération sur gélose mannitée. — Coloration au nitrate d'argent, présence de cils. — Grossissement : 1.500 fois.

Préparations : M. Perey.
Microphotographies : L. Gouthière.
Objectifs Stiassnie.

PLANCHE V

13

14

15



Georges Truffaut et N. Bezssonoff

PLANCHE VI

STÉRILISATION PARTIELLE DU SOL PAR LA VAPEUR A 120°

Essais sur Tomates.



Terre non stérilisée. — Terre ayant été stérilisée.

STÉRILISATION PARTIELLE PAR LE SULFURE DE CALCIUM

Témoin. — Terre ayant reçu du sulfure de calcium.

EFFETS DE LA STÉRILISATION PARTIELLE SUR LE MAÏS



Vapeur d'eau à 120° — Sulfure de calcium. — Plante témoin.

STÉRILISATION PARTIELLE DU SOL PAR LE SULFURE DE CALCIUM

Godetia traités. Godetia témoins.

STÉRILISATION PARTIELLE DU SOL PAR LE SULFURE DE CALCIUM



Maïs témoin. Maïs traité.

STÉRILISATION PARTIELLE DU SOL PAR LE SULFURE DE CALCIUM ET LES CARBURES AROMATIQUES

Blé témoin. Blé traité.

STÉRILISATION PARTIELLE DU SOL PAR LE SULFURE DE CALCIUM



Choux traités. Choux témoins.

PLANCHE X

STÉRILISATION PARTIELLE EFFECTUÉE DANS DU SABLE PUR
SUR MOUTARDE BLANCHE



Témoin.

Effets de la Sulgine formule normale.

Effets de la Sulgine additionnée de carbonate de magnésie et de sels de potasse.

IMPRIMERIE KAPP
· PARIS-VANVES ·